



**Ana Rita Botelho Lázaro**

Licenciatura em Ciências da Engenharia Química e  
Bioquímica

## **Validação dos métodos internos de ensaio: Teor de Pó e Teor de Peróxidos**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Ana Matos, Diretora da Qualidade, Amorim &  
Irmãos/UI-Equipar  
Coorientador: Mário Eusébio, Professor Auxiliar, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Susana Filipe Barreiros  
Arguente: Doutor José Pedro Viegas Fernandes  
Vogal: Engenheira Ana Maria Fernandes de Matos



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Março, 2016**







# **Validação dos métodos internos de ensaio: Teor de Pó e Teor de Peróxidos**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Ana Matos, Diretora da Qualidade, Amorim & Irmãos/UI-Equipar

Coorientador: Mário Eusébio, Professor Auxiliar, FCT/UNL

**Março de 2016**



### **Validação dos métodos internos de ensaio: Teor de Pó e Teor de Peróxidos**

Copyright © Ana Rita Botelho Lázaro, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.





*Dedico esta dissertação aos meus pais, Elisabete Botelho e António Lázaro,  
por todo o esforço para me proporcionar uma melhor educação, sem eles  
não seria possível a superação de mais esta importante etapa.*



# Agradecimentos

Gostaria de fazer uma simbólica referência a todas as pessoas e entidades que, de uma maneira ou de outra, cederam o seu contributo para que esta etapa, culminada neste trabalho, pudesse chegar a bom porto.

Ao Grupo Amorim, em particular à UI-Equipar da Amorim & Irmãos, S.A por me ter aceitado para a realização deste trabalho, assim como por me ter proporcionado este enriquecedor primeiro contato com o mundo empresarial.

Ao Labcork, em particular à Engenheira Sílvia Coelho e ao Engenheiro Paulo Aguiar, pela disponibilidade e simpatia como me receberam, assim como o agradecimento pelo esclarecimento em todas as minhas questões.

À minha orientadora, a Engenheira Ana Matos, por me ter proposto este desafio e pelo incentivo e auxílio prestado ao longo de todo o trabalho.

Ao Professor Mário Eusébio, pela disponibilidade, pelo sentido crítico e auxílio nas dúvidas que foram surgindo ao longo do trabalho, assim como pelo incentivo ao longo do mesmo.

A toda a equipa do laboratório da UI-Equipar, local por onde acabei de passar a maioria do tempo, ao chefe João Morgado, à Marina Neves, Anabela Rodrigues, Amélia Benito e à Cidália Caetano. A todos um especial agradecimento pela receptividade e acima de tudo pela enorme boa disposição no decorrer dos dias.

Agradeço ainda a todos os colaboradores da UI-Equipar pela disponibilidade e ajuda prestada.

A todos os meus colegas e amigos pela boa disposição e companheirismo.

À minha família, pais, avós e irmã por terem contribuído de forma crucial no decorrer destes últimos seis meses, aqui deixo o meu grande, mas ainda assim insuficiente, *Obrigada*.



# Resumo

A presente dissertação foi realizada na UI-Equipar, pertencente ao grupo Amorim & Irmãos S.G.P.S., S.A, tendo o trabalho sido desenvolvido ao longo de um estágio de seis meses no laboratório de qualidade da unidade.

O objetivo proposto para o estágio foi a validação dos métodos de ensaio Teor de Pó e Teor de Peróxidos seguidos no laboratório da qualidade.

A existência de quantidades residuais de pó no vinho pode tornar-se prejudicial, podendo provocar alterações a nível de sabor e aspeto visual.

No processo de produção de rolhas após a etapa de lavagem ficam por vezes resíduos de peróxidos. Um nível alto destes resíduos pode reagir adversamente com os níveis de dióxido de enxofre no vinho.

Na validação do método de Teor de Pó verificou-se que a especificação atual de 3 mg/rolha se encontra muito superior aos resultados obtidos em termos práticos, assim como dos valores estudados historicamente. Os limites de deteção e quantificação apresentaram valores muito altos, correspondendo a  $LD = 0,4$  mg/rolha e  $LQ = 1,1$  mg/rolha. No estudo da precisão em condições de repetibilidade, o limite nunca foi ultrapassado e o coeficiente de variação apresentou um valor muito alto de 28,6%. No estudo da reprodutibilidade, os resultados apresentaram sempre um valor de z-score inferior a 2. No caso da precisão intermédia, o limite de precisão nunca foi ultrapassado. O método apresentou-se robusto considerando a variação de agitação e não robusto quando considerada o tipo de água utilizada.

Foi ainda elaborado um estudo considerando o equipamento "Hach Lange", o qual se demonstrou mais preciso. Ao propor a definição de nova especificação para os diferentes tipos de rolha, foi possível obter um  $LSE_A=0.90$  e  $LSE_B=1.03$ .

Relativamente ao método de Teor de Peróxidos, a gama de trabalho encontra-se definida entre 0.2-20.0 mg/l  $H_2O_2$ . Os limites de deteção e quantificação são obtidos baseados na gama de trabalho que o aparelho permite ler, 0.2 mg/l  $H_2O_2$ . No estudo da repetibilidade, o limite de repetibilidade foi ultrapassado apenas numa medição. O coeficiente de variação apresentou um valor de 10%. No estudo da reprodutibilidade, os resultados apresentaram sempre um valor de z-score inferior a 2. No estudo da precisão intermédia, o limite de precisão nunca foi ultrapassado. Este método não se apresentou robusto para variações de velocidade de agitação nem considerando o tipo de água utilizada.

**Palavras-chave:** Validação, Teor de Pó, Teor de Peróxidos, Melhoria



# Abstract

This master's thesis was developed in an internship, over a period of six months, in the quality laboratory unit of the UI-Equipar, Amorim & Irmãos S.G.P.S., S.A.

The main purpose was to validate the Dust Content method and the Peroxides Residues method adopted by the quality laboratory unit.

The presence of residual amounts of powder in the wine can become detrimental and can lead to changes in its flavor and visual appearance.

In the cork stoppers production process, after the washing stage, we can sometimes find waste peroxides. A high level of these residues can react adversely with the wine's sulfur dioxide levels.

While the validation of Dust Content method was in progress, we were able to verify that the present specification of 3 mg/stopper is not only higher than the results obtained in practical terms, but also than the results observed periodically.

The limits of detection and quantification showed very high values, corresponding to  $DL = 0.4$  mg/stopper and  $LOQ = 1.1$  mg/stopper. In the study of precision under repeatability conditions, the limit was not exceeded and the coefficient of variation showed the high value of 28.6%. In the study of reproducibility, the results always showed a value of z-score lower than 2. In the case of intermediate precision, the accuracy limit was not exceeded. The method presented was robust considering the stirring speed variations and not robust when considering the kind of water used. It was also undertaken a study considering the equipment 'Hach Lange', which proved to be more accurate. In proposing the new specification setting for the different types of stopper, it was possible to get a  $LSE_A=0.90$  and  $LSE_B=1.03$ .

Regarding the method of Peroxides Residues, the working range was defined between 0.2-20.0 mg/l  $H_2O_2$ . The detection and quantification limits were obtained based on the working range of the equipment RQFlex 0.2 mg / l  $H_2O_2$ . In repeatability conditions the limit was exceeded only once. The coefficient of variation is 10%. In the study of the reproducibility the results have always showed a value of z-score lower than 2. In the study of the intermediate precision, the precision limit was not exceeded. This method proved not to be robust to be submitted to stirring speed variations nor even when considering the kind of water used.

**Keywords:** Validation, Dust Content, Peroxides Residues, Improvement





# Índice

1 . Introdução.....	1
1.1 Enquadramento e Motivação .....	1
1.2 Abordagem.....	2
1.3 Estrutura do trabalho .....	3
2 . Estado da Arte .....	5
2.1 O sobreiro.....	5
2.2 A cortiça .....	5
2.2.1 Estrutura macroscópica .....	6
2.2.2 Estrutura microscópica .....	6
2.2.3 Composição química.....	7
2.2.4 Qualidade da cortiça.....	10
2.3 Efeito dos vedantes no vinho .....	13
2.4 O vinho e seus contaminantes.....	14
2.4.1 Reações de oxidação no vinho .....	15
3 . Caso de Estudo.....	17
3.1 Corticeira Amorim .....	17
3.1.1 Estrutura da Empresa.....	18
3.2 Unidade Industrial – Equipar .....	18
3.2.1 Produtos.....	19
3.3 Processo de produção de rolhas.....	21
3.4 Controlo da Qualidade .....	26
3.5 Laboratório da Qualidade.....	27
3.5.1 Métodos de ensaio .....	29
4 . Aplicação de metodologia Lean.....	33
4.1 Kaizen .....	33
4.2 Metodologia 5S.....	33
4.2.1 Aplicação da ferramenta 5S.....	35
4.3 Diagrama de Spaghetti .....	38
5 . Validação dos métodos internos de ensaio: Teor de Pó e Teor de Peróxidos .....	41
5.1 Fundamentos da validação do método.....	41
5.1.1 Gama de trabalho.....	41
5.1.2 Limiares Analíticos do método de ensaio: Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) .....	41
5.1.3 Precisão .....	42
5.1.3.1 Repetibilidade .....	42
5.1.3.2 Reprodutibilidade .....	43

5.1.3.3 Precisão intermédia .....	44
5.1.4 Robustez .....	45
5.2 Método de determinação de Teor de Pó .....	45
5.2.1 Materiais e Reagentes .....	45
5.2.2 Métodos .....	46
5.2.3 Validação do método – Procedimentos .....	48
5.3 Método de determinação de Teor de Peróxidos .....	48
5.3.1 Materiais e Reagentes .....	48
5.3.2 Métodos .....	49
5.3.3 Validação do método - Procedimentos .....	50
6 .Resultados e Discussão .....	51
6.1 Teor de Pó .....	51
6.1.1 Gama de trabalho .....	51
6.1.2 Limiares Analíticos .....	51
6.1.2.1 Diagrama Ishikawa .....	52
6.1.3 Precisão .....	52
6.1.3.1 Repetibilidade .....	53
6.1.3.2 Reprodutibilidade .....	54
6.1.3.3 Precisão intermédia .....	55
6.1.4 Robustez .....	56
6.1.5 Método “Hach Lange” .....	57
6.1.6 Definição de nova especificação .....	58
6.2 Teor de Peróxidos .....	59
6.2.1 Gama de trabalho .....	59
6.2.2 Limiares analíticos .....	60
6.2.3 Precisão .....	60
6.2.3.1 Repetibilidade .....	60
6.2.3.2 Reprodutibilidade .....	61
6.2.3.3 Precisão intermédia .....	61
6.2.4 Robustez .....	63
7 . Conclusões .....	65
Sugestões de Trabalho Futuro .....	67
Bibliografia .....	69
Anexos .....	73

# Lista de Tabelas

Tabela 1. Constituição química da cortiça segundo diferentes autores (Natividade,1950) (Guillemonat, 1960) (Lissia e Pes, 1984) (Pereira,1988).....	9
Tabela 2. Granulados produzidos na Unidade Industrial Equipar .....	20
Tabela 3. Resultados Limiares Analíticos do método Teor de Pó: LD e LQ.....	51
Tabela 4. Valores de Teor de Pó obtidos nos ensaios de repetibilidade, valor de limite de repetibilidade e coeficiente de variação. ....	53
Tabela 5. Resultados do ensaio interlaboratorial de Teor de Pó e respetivo z-score. ....	54
Tabela 6. Resultados do teste de precisão do método Teor de Pó obtidos sob condições de precisão intermédia, desvio padrão ( $S_{pi}$ ) e limite de precisão intermédia ( $r_{pi}$ ). ....	55
Tabela 7. Resultados dos ensaios do teste de robustez ao método Teor de Pó considerando o parâmetro: tipo de água utilizada.....	56
Tabela 8. Resultados dos ensaios do teste de robustez ao método considerando o parâmetro: velocidade de agitação.....	56
Tabela 9. Resultados dos ensaios do teste da robustez do método Teor de Pó.....	57
Tabela 10. Resultados ensaio Teor de Pó; "Hach Lange" vs método usual. ....	57
Tabela 11. Análise de variância (ANOVA) para os diferentes tipos de rolha.....	58
Tabela 12. Análise das diferenças entre os tipos de rolha segundo o método de Fisher, com um intervalo de confiança de 95%.....	58
Tabela 13. Limites superiores de especificação para cada grupo de rolhas. ....	59
Tabela 14. Valores de Teor de Peróxidos obtidos nos ensaios de repetibilidade, valor de limite de repetibilidade e coeficiente de variação. ....	60
Tabela 15. Resultados do ensaio interlaboratorial de Teor de Peróxidos e respetivo z-score...	61
Tabela 16. Resultados do teste de precisão do método Teor de Peróxidos obtidos sob condições de precisão intermédia, desvio padrão ( $S_{pi}$ ) e limite de precisão intermédia ( $r_{pi}$ ). ....	62
Tabela 17. Resultados dos ensaios do teste de robustez ao método de Teor de Peróxidos considerando o parâmetro: tipo de água utilizada.....	63
Tabela 18. Resultados dos ensaios do teste de robustez ao método Teor de Peróxidos considerando o parâmetro: velocidade de agitação. ....	63
Tabela 19. Resultados dos ensaios do teste da robustez do método Teor de Peróxidos.....	64
Tabela 20. Resultados dos ensaios dos Limiares Analíticos: Teor de Pó.....	73
Tabela 21. Resultados dos ensaios de Repetibilidade: Teor de Pó.....	73
Tabela 22. Resultados dos ensaios de Repetibilidade: Teor de Pó.....	74
Tabela 23. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Pó. Operador 1.....	74
Tabela 24. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Pó. Operador 2.....	74
Tabela 25. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Pó. Operador 3.....	75
Tabela 26. Resultados dos ensaios de Robustez: Teor de Pó. Ensaio com água filtrada. ....	75
Tabela 27. Resultados dos ensaios de Robustez: Teor de Pó. Ensaio com água corrente. ....	75
Tabela 28. Resultados dos ensaios utilizando o equipamento "Hach Lange": Teor de Pó. ....	76
Tabela 29. Resultados dos ensaios de Repetibilidade: Teor de Peróxidos.....	76
Tabela 30. Resultados dos ensaios de Reprodutibilidade: Teor de Peróxidos.....	77
Tabela 31. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Peróxidos. Operador 1...	77
Tabela 32. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Peróxidos. Operador 2...	77
Tabela 33. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Peróxidos. Operador 3...	78
Tabela 34. Resultados dos ensaios de Robustez: Teor de Peróxidos. Ensaio com água corrente. ....	78
Tabela 35. Resultados dos ensaios de Robustez: Teor de Peróxidos. Ensaio com água filtrada.....	78



# Lista de Figuras

Figura 1-1 Metodologia a seguir na presente dissertação. ....	3
Figura 2-1 Representação esquemática da formação da cortiça de reprodução: A - Entrecasco após o descortiçamento; B - 30 dias depois; C - No fim do outono; D - 9 anos depois (Natividade, 1950).....	6
Figura 2-2. Célula de cortiça: A – corte transversal ou radial; B – corte tangencial. (Silva, 2010) .....	7
Figura 2-3. Suberina: éster glicerol-w-hidroxiácido-ácido ferúlico.....	8
Figura 2-4. Unidade base da estrutura da lenhina. ....	8
Figura 2-5 Aspeto de cortiças com diferentes porosidades. (Natividade, 1950).....	10
Figura 2-6. Esquema da redução do oxigénio (adaptado de Waterhouse and Laurie, 2006). ...	15
Figura 2-7. Esquema da autooxidação de compostos orgânicos.....	16
Figura 3-1 a) Pavimentos Wicanders (Sagrada Família 2011) b) Pavilhão de Portugal na Expo Xangai (2010). ....	17
Figura 3-2. Organograma da Corticeira Amorim. ....	18
Figura 3-3. Montado de sobreiro em Portugal e localização de Coruche (APCOR, 2015). Vista aérea da UI-Equipar.....	19
Figura 3-4. Rolha Aglomerada: Caraterísticas. ....	19
Figura 3-5 Rolha Twin Top®: Caraterísticas. ....	19
Figura 3-6 Rolha Advantec® e Advantec Colours®: Características. ....	20
Figura 3-7 Processo produtivo de rolhas aglomeradas. ....	21
Figura 3-8. Matéria-prima para a trituração: apara especial, apara refugo, apara broca. ....	22
Figura 3-9 Sistema ROSA Hitec. ....	22
Figura 3-10 Lado esquerdo: misturadora. Lado direito: linha de extrusão Twin Top. ....	23
Figura 3-11. Lado esquerdo: Colagem de discos numa rolha TT e numa rolha 0+2. Lado direito: Escolha do melhor lado do disco. ....	23
Figura 3-12. Linhas e cestos de retificação AGLO. ....	24
Figura 3-13. Zona de lavagem AGLO. ....	24
Figura 3-14. Escolha eletrónica. ....	25
Figura 3-15. Lado direito: zona de marcação a fogo. Lado esquerdo: rolhas marcadas a fogo e tinta, respetivamente.....	25
Figura 3-16. Zona de tratamento. ....	26
Figura 3-17. Zona de embalagem.....	26
Figura 3-18. Fluxograma da organização da Qualidade.....	27
Figura 3-19.a) Macerações de aparas. b) Macerações de rolha.....	28
Figura 3-20. Cromatógrafo utilizado para deteção de TCA.....	28
Figura 3-21. Ensaio de torção: Torsilab. ....	29
Figura 3-22. Teste de vedação.....	29
Figura 3-23. Ensaio de capilaridade. ....	30
Figura 4-1 Etapas da metodologia 5S.....	34
Figura 4-2 Organização de amostras de granulados: antes e depois. ....	35
Figura 4-3 Arrumação de tabuleiros: antes e depois. ....	36
Figura 4-4 Arrumação e triagem de garrafas de clientes.....	36
Figura 4-5 Arrumação de carrinho de transporte de amostras: antes e depois. ....	37
Figura 4-6 Identificação de amostras para determinação de TCA: antes e depois.....	38
Figura 4-7. Diagrama de Spaghetti: método de ensaio de Teor de Pó. ....	38
Figura 5-1 Amostragem de rolhas utilizadas nos ensaios de Teor de Pó. ....	46
Figura 5-2. Esquema representativo das etapas do método de Teor de Pó. ....	47
Figura 5-3 Equipamento Hach Lange DR 1900. ....	47
Figura 5-4 Amostragem de rolhas utilizadas nos ensaios de Teor de Peróxidos. ....	49

Figura 5-5. Esquema representativo das etapas do método de Teor de Peróxidos. ....	50
Figura 6-1. Dados históricos Teor de Pó (UI-Equipar, 2015) .....	51
Figura 6-2. Diagrama Ishikawa: Linha de base dos brancos com ruído.....	52

# Lista de Abreviaturas

**A&I** – Amorim e Irmãos.

**AGLO** – Aglomerada.

**APCOR** – Associação Portuguesa da Cortiça.

**CIPR** – Código Internacional das Práticas Rolheiras.

**CQO** – Carência Química de Oxigénio.

**EQ** – Equipar.

**MDT** – Moinho de trituração responsável pela “grande trituração”.

**MO** – Micro-ondas.

**RA** – Rolha Aglomerada. Granulado de cortiça de granulometria entre dois e três milímetros.

**RCT** – Rolha Champanhe Técnica. Granulado de cortiça de granulometria entre três e quatro milímetros.

**RN** – Rolha Neutrocork. Granulado de cortiça de granulometria entre um e dois milímetros.

**ROSA** – *Rate of Optimal Steam Application*; Sistema de tratamento e mitigação/remoção de TCA para granulado/rolha.

**TCA** – 2,4,6-Tricloroanisol.

**TT** – Twin Top.

**UI** – Unidade industrial.





# 1 . Introdução

## 1.1 Enquadramento e Motivação

O montado de sobro contribui de forma substancial na economia e ecologia de alguns países do Mediterrâneo, ocupando uma área mundial de mais de 2.2 milhões de hectares, dos quais cerca de 730 mil hectares situam-se em Portugal, equivalendo a 23% da área de florestal nacional. A produção mundial de cortiça é de 340 mil toneladas por ano, das quais 55% são oriundas de Portugal. O restante provém de Espanha, Itália, França, Marrocos, Tunísia e Argélia. (APCOR, 2015)

Portugal é o líder mundial do sector da cortiça no que toca às exportações. Em 2013, assume uma quota de 63,9%, seguido por Espanha com 16%. Saliente-se que a quota tem aumentado, nos últimos anos, passando de 58,6% para 64%, no último ano. O total mundial das exportações atingiu, em 2013, 1.305 milhões de euros, o que indica uma descida face a 2012 de cerca de um por cento, equivalente a mais de 14,5 milhões de euros. (APCOR, 2015)

No que diz respeito a importações, Portugal é o terceiro maior importador mundial de cortiça que utiliza para transformação e posterior exportação sob a forma de produtos de consumo final, com uma quota de 10% e 136,1 milhões de euros. (APCOR, 2015)

O principal sector de destino dos produtos de cortiça é a indústria vitivinícola que absorve 70% do produzido, seguido do sector da construção civil e outras aplicações com 30%, onde se incluem pavimentos, isolamentos e revestimentos, placas, folhas, assim como outros produtos utilizados para decoração. (APCOR, 2015)

Na indústria vitivinícola, a cortiça é utilizada no fabrico de rolhas, usadas como vedante de garrafas de vinho. Esta interação da rolha com o vinho contribui de forma benéfica para desenvolver o seu carácter e confere valor. A cortiça beneficia da produção vinícola e corresponde assim com rolhas de desempenho superior. No entanto, a presença de determinados compostos na rolha e o fato de estar em contato direto com um alimento, o vinho, leva a que o cumprimento de rígidas práticas de higiene, para impedir a contaminação durante a produção das rolhas, seja uma preocupação permanente.

A indústria corticeira aposta na certificação em nome da qualidade e da modernização, para isso conta com a Associação Portuguesa da Cortiça (APCOR) e com a Confederação Europeia da Cortiça (*CELiège*). Estas identidades promovem e implementam o Código Internacional das Práticas Rolheiras (CIPR) e o respetivo sistema de qualidade, o *Systecode*.

Tornou-se necessário a muitas empresas recorrer a vários outros tipos de certificação alimentar para reforçar as práticas já preconizadas, tais como, através do sistema HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Point* – Análise de Risco e Ponto de Controlo Crítico), bem como através de Sistemas de Gestão de Qualidade (ISO 9001) e Sistemas de Gestão da Segurança Alimentar (ISO 22000). Estas normas ISO são atribuídas pela Associação Portuguesa de Certificação (APCER), normas que reconhecem as empresas que adotam padrões elevados de conformidade alimentar com efeitos visíveis na redução ou eliminação dos riscos para a saúde dos consumidores. (APCOR, 2015)

Ao nível da acreditação de laboratórios de ensaio e/ou calibração, surgiu a Norma NP EN ISO/IEC 17025, que veio garantir a diferenciação entre uma qualidade controlada, verificada e validada e a qualidade aparente, que pode ou não ser comprovada.

No laboratório da Unidade Industrial Equipar, são elaborados diversos ensaios a nível de controlo da qualidade. A determinação de TCA pelo método de cromatografia gasosa, determinação de massa volúmica e humidade, determinação da força de extração, determinação do Teor de Peróxidos, torção, vedação, determinação do Teor de Pó, teste de fervura, capilaridade e teste da bomba.

Foi feito um acompanhamento primordial a todos ensaios com o intuito de perceber as principais lacunas e posterior melhoria dos mesmos.

O principal objetivo da presente dissertação é a validação dos métodos de determinação do Teor de Pó e Teor de Peróxidos, seguidos no laboratório de qualidade da UI-Equipar.

O método de determinação do Teor de Pó é muito importante na análise da qualidade da rolha, na medida em que indica a quantidade de pó libertada após o seu tratamento. Este tratamento é tipicamente feito com um elastómero (polímero com propriedades “elásticas”) e silicone que atua nas forças de inserção e extração na garrafa. Assim, se o tratamento for bem aplicado não existirá grande libertação de pó. A validação deste método prende-se com o fato de serem detetadas algumas lacunas na sua execução e uma vez que os resultados obtidos se encontram muito abaixo da especificação definida para o cliente, sendo necessário a sua possível alteração. Relativamente ao segundo método em estudo, determinação do Teor de Peróxidos, é de referir que as rolhas durante a sua produção sofrem um processo de lavagem, onde é utilizado peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) para limpar e desinfetar. Deste processo resulta por vezes a existência de resíduos de peróxidos nas rolhas. Um nível alto destes resíduos pode reagir adversamente com os níveis de dióxido de enxofre no vinho.

Os resultados deste método apresentam oscilações, na maioria das vezes não são muito concordantes. Justificando-se assim a sua análise, a fim de se obter uma maior confiança nos resultados obtidos.

É necessário garantir que as rolhas possuem o nível de qualidade adequado, sendo cumpridos todos os requisitos do cliente, atestando a garantia de todas as características técnicas do produto dentro da especificação.

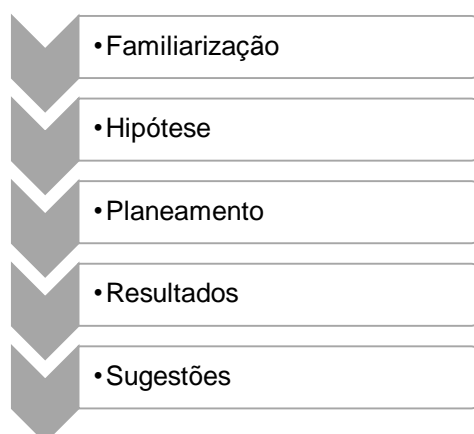
## **1.2 Abordagem**

Para a realização da presente dissertação de mestrado, em primeiro lugar, foi feita uma familiarização com todos os assuntos relevantes e de interesse para o estudo, assim como com todos os métodos de ensaio realizados no laboratório.

Em segundo lugar, e depois de entendidos alguns conceitos procedeu-se à formulação de uma hipótese de trabalho e planeamento de ensaios. Após a sua realização, os resultados foram analisados e retiradas as respetivas conclusões.

Por último, com base no objetivo proposto e aplicação da hipótese de trabalho, fornecem-se as conclusões e sugestões necessárias à melhoria da execução de ensaios.

Na Figura 1-1 encontra-se o esquema da metodologia a seguir na presente dissertação.



*Figura 1-1 Metodologia a seguir na presente dissertação.*

### **1.3 Estrutura do trabalho**

A presente dissertação tem a seguinte estrutura:

- Capítulo 1 – Apresenta-se o contexto que motivou a realização do presente estudo, quais os seus objetivos e ainda a abordagem aplicada;
- Capítulo 2 – Caracteriza-se a Corticeira Amorim e a UI-Equipar, empresa onde este estudo irá ser realizado, expondo-se a sua gama de produtos e o processo produtivo; é apresentado o laboratório da qualidade, assim como as atividades desenvolvidas no mesmo;
- Capítulo 3 – É feita a contextualização do estado da arte. Fez-se uma pesquisa bibliográfica relacionada com a matéria-prima em estudo, suas características físico-químicas; com o intuito de perceber melhor o seu comportamento e algumas das suas propriedades; é dado a conhecer a importância dos métodos a validar.
- Capítulo 4 – São descritas algumas ferramentas Lean, assim como aplicação das mesmas no laboratório.
- Capítulo 5 – São abordados os fundamentos de validação dos métodos, expõe-se a metodologia que se pretende adotar para a validação de cada método, bem como quais os materiais e reagentes utilizados.
- Capítulo 6 – É feita a apresentação e discussão dos resultados obtidos para cada ensaio realizado.
- Capítulo 7 – Neste último capítulo é feita uma apreciação final com base nas conclusões retiradas em cada um dos ensaios realizados.



## 2 . Estado da Arte

### 2.1 O sobreiro

O sobreiro (*Quercus Suber L.*) é uma espécie típica da região mediterrânea ocidental podendo viver, em média, 200 anos apesar dos mais de 15 descortiçamentos, intercalados por períodos de nove anos, que lhe são feitos. É uma árvore que apresenta uma folhagem verde durante todo o ano e realiza a fotossíntese durante mais tempo do que é possível às árvores caducifólias que perdem as folhas durante o inverno. Os sobreiros têm folhas reativas à secura com poros que se fecham e reduzem as perdas de água por transpiração durante o tempo seco.

O sobreiro é uma espécie que se adapta bastante bem ao clima mediterrânico, caracterizado por períodos de seca estival e invernos amenos – com temperaturas entre os -5°C e 40°C -, com uma precipitação mínima anual de 400 mm e máxima de 1700 mm, e pode ter um solo com um pH entre 4,8 e 7,0.

O montado de sobreiro é um dos mais ricos ecossistemas do mundo. Portugal concentra 34% da área mundial, o correspondente a uma área de 736 mil hectares e 23% da floresta nacional. Portugal possui a maior área do mundo de montado de sobreiro.

O sobreiro é, atualmente, uma espécie típica da região Mediterrânea Ocidental, ocorrendo de forma espontânea em Portugal e Espanha, mas também em Marrocos, na Argélia e na Tunísia. Existe também no Sul de França e na costa ocidental de Itália, bem como nas ilhas Sicília, Córsega e Sardenha. A área total que atualmente ocupa é de cerca de 1,44 milhões de hectares na Europa e 0,70 milhões de hectares no Norte de África. Mais de metade da área encontra-se na Península Ibérica. (APCOR, 2016)

### 2.2 A cortiça

Uma das particularidades do sobreiro é a produção de uma casca exterior homogénea, formada por um tecido elástico, impermeável e isolante térmico: a cortiça. O processo de adição de anéis anuais de cortiça faz-se a partir da atividade de um conjunto de células mãe, o felogénio. A homogeneidade da cortiça resulta do felogénio do sobreiro se manter em atividade durante toda a vida da planta, em contraste com as outras árvores, onde o felogénio é descontínuo e tem uma duração anual. A cortiça pode ser extraída, sem danificar a árvore, voltando a ser regenerada. É um material 100 % natural, reciclável, reutilizável e renovável. Possui qualidades únicas, inigualáveis e que até hoje nenhum engenho humano conseguiu imitar ou ultrapassar.

Cada sobreiro demora cerca de 25 anos até poder ser descortiado pela primeira vez, mas só a partir do terceiro descortiçamento a cortiça tem a qualidade exigida para a produção de rolhas. As duas primeiras extrações resultam em matéria-prima para isolamento, pavimentos e outros fins. Isto significa que, para produzir cortiça de qualidade para rolhas, cada sobreiro necessita de mais de 40 anos.

A cortiça apresenta excelentes capacidades regenerativas, que juntamente com a grande quantidade de células produzidas, quase exclusivamente células suberificadas em grande maioria de paredes finas, permitem fazer a exploração de forma sustentada da cortiça, e tornam num produto tão interessante industrialmente e, conseqüentemente, tão valorizado. (Graça *et al.*, 1986)

### 2.2.1 Estrutura macroscópica

Quando a cortiça é extraída das árvores, fica exposta a parte exterior do entrecasco, que é “empurrada” pelas sucessivas camadas de novas células que se vão formando no interior, originando-se a “raspa”, que constitui a parte externa da cortiça, que seca, contrai e endurece, fendilhando por ação do aumento do perímetro exterior em relação ao perímetro interior, devido ao crescimento. Analogamente, a parte interna do tecido suberoso, que corresponde à última camada de crescimento anual, é designada por “barriga” ou “ventre”. Tem menor elasticidade do que as outras camadas e apresenta orifícios dos canais lenticulares (poros). A porosidade está estreitamente ligada à qualidade da cortiça. (Gil L. 1998; Oliveira L. 2000)

A cortiça virgem não apresenta raspa. Ao longo da espessura da cortiça são observáveis os anéis de crescimento, distinguíveis por serem constituídos por células com diferentes dimensões e diferentes espessuras das suas paredes celulares formadas na primavera/verão ou outono/inverno. (Figura 3-1)

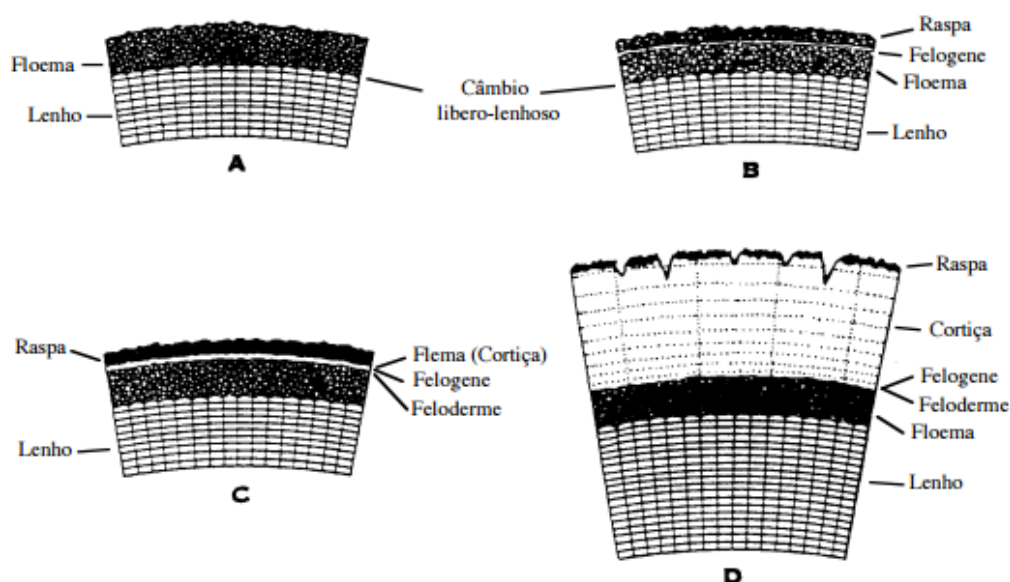


Figura 2-1 Representação esquemática da formação da cortiça de reprodução: A - Entrecasco após o descortiçamento; B - 30 dias depois; C - No fim do outono; D - 9 anos depois (Natividade, 1950)

### 2.2.2 Estrutura microscópica

A cortiça é um tecido constituído por membranas celulares, cujo conteúdo desapareceu durante o crescimento, e têm um posterior processo de suberificação das membranas celulares. Não é, porém, apenas a estrutura do tecido que confere à cortiça as suas características, uma vez que muitas das suas propriedades se devem à natureza das membranas celulares. A comunicação entre as células é assegurada por microcanais que atravessam a parede celular e são designados por plasmodesmos. A cortiça é constituída por células dispostas de modo compacto, sem espaços livres, de uma forma regular (Figura 3-2). O volume das paredes das células é de cerca de 10–15 por cento do volume total. (Gil L. 1998)

As paredes celulares são constituídas por uma base estrutural e suberina e lenhina, com uma quantidade elevada de ceras extratáveis. São cinco as camadas que constituem a parede celular das células de cortiça: duas de natureza celulósica que forram as cavidades celulares; duas mais

interiores suberificadas (que conferem impermeabilidade) e uma camada média lenhificada (que confere rigidez e estrutura). As membranas celulares possuem uma espessura mais fina nas células geradas na primavera/verão (1 a 1,25  $\mu\text{m}$ ) e maior nas células de outono/inverno (2 a 2,5  $\mu\text{m}$ ). Este fato associado à maior ou menor dimensão das células, também interfere nas propriedades físico-mecânicas da cortiça. (Gil, 2006)

As características de isolamento da cortiça devem-se ao facto de haver estes minúsculos compartimentos (células) cheios de ar. As células de cortiça são muito mais pequenas do que as dos materiais celulares ordinários, o que contribui para justificar as excepcionais propriedades de isolamento deste material. A transferência de calor por condução depende apenas da quantidade de material sólido da estrutura das células (que é menor para a cortiça expandida termicamente). A convecção depende do tamanho das células e para células pequenas não contribui significativamente. A radiação depende também do tamanho das células: quanto menores, mais vezes o calor tem de ser absorvido e re-irradiado. (Gil L. 1998)

Uma célula média de cortiça pode ser representada por um prisma de secção hexagonal, variando o contorno poligonal, normalmente entre quatro e nove lados, mas preferencialmente entre cinco a sete. Um centímetro cúbico de cortiça possui em média entre 30 a 42 milhões de células. Cada anel anual compreende normalmente 50 a 200 camadas de células de largura (1 a 6 mm), sendo esta variação a principal responsável pelas diferentes espessuras nos crescimentos anuais da cortiça (Gil, 2006).

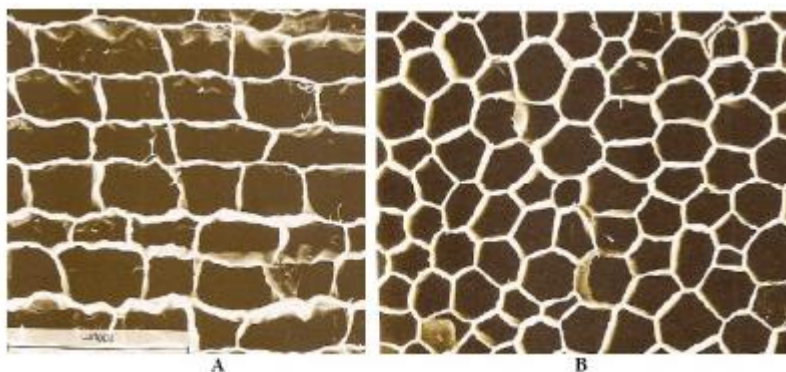


Figura 2-2. Célula de cortiça: A – corte transversal ou radial; B – corte tangencial. (Silva, 2010)

### 2.2.3 Composição química

A composição química da cortiça não é ainda totalmente conhecida. Diferentes autores apresentaram uma ampla variação de valores devido ao uso de diferentes amostras de cortiça. De facto, a constituição química deste material natural depende de vários fatores tais como a origem geográfica, as condições de solo e clima, a origem genética, a dimensão e idade da árvore, condições de crescimento, entre outros (Pereira, 1988; Conde *et al.*, 1998; Conde *et al.*, 1999).

O tecido suberoso é constituído por componentes estruturais (aproximadamente 85% da sua massa seca) e por constituintes não estruturais.

Os constituintes estruturais são moléculas de elevado peso molecular e constituem a base física das paredes celulares. Só são removíveis após reações químicas que os transformam em unidades mais pequenas, permitindo assim que se tornem solúveis e desse modo sejam extraídos.

Incluem três conjuntos poliméricos: polissacárido, polifenólico e poliéster alifático. Os polissacáridos incluem a celulose e a hemicelulose, os polifenóis incluem a lenhina e polímeros afins enquanto que os poliésteres alifáticos correspondem à suberina.

Do ponto de vista quantitativo, a suberina constitui cerca de 50% da massa das paredes celulares, a lenhina e associados 30% e os polissacáridos 10% (Conde *et al.*, 1998).

De fato, a suberina é o principal constituinte estrutural da cortiça. É uma estrutura polimérica extensa, assegurada por ligações éster entre os seus monómeros (polímero de poliéster) (Figura 3-3). Existem basicamente três tipos de monómeros na suberina: o glicerol, os monómeros alifáticos ácidos de cadeia longa e os compostos aromáticos (normalmente fenólicos, dos quais o ácido ferúlico é o mais importante). A suberina constitui uma barreira protetora, impedindo a passagem de água e de gases (Carvalho, 1987).

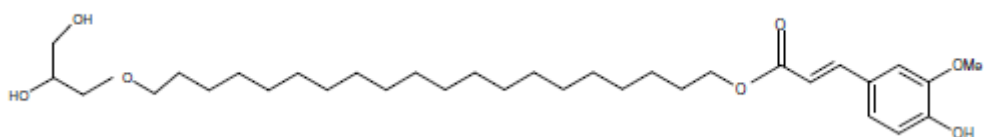


Figura 2-3. Suberina: éster glicerol-w-hidroxiácido-ácido ferúlico.

A lenhina é um heteropolímero de natureza fenólica formado pela polimerização de três álcoois: álcool cumaróilico, álcool coniferílico (ou guaiacilo) e álcool sinapílico (ou siringilo) (Figura 3-4). Cada tipo de unidade pode formar vários tipos de ligação diferentes do tipo C-C e C-O-C com outras unidades, das quais a mais abundante é a alquil-aril-éter-b-O-4 (Boerjan *et al.*, 2003). Estes polímeros apresentam uma grande heterogeneidade dada a variedade de monómeros e das respectivas ligações. Além disso, as unidades de álcool são capazes de formar ligações com outros polímeros das paredes celulares, interligando polissacáridos e proteínas com a lenhina numa rede tridimensional muitocomplexa (Whetten *et al.*, 1998).

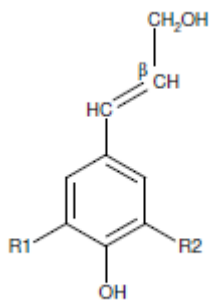


Figura 2-4. Unidade base da estrutura da lenhina.

Os polissacáridos são componentes das paredes das células que ajudam a definir a textura da cortiça. A celulose é um homopolímero linear de elevada massa molecular constituído exclusivamente por unidades de b-D-glucopirranose.

A hemicelulose é um heteropolissacárido constituído por polissacáridos complexos, cujas unidades básicas são hexoses (glucose, manose, galactose) e pentoses (xilose, arabinose), podendo também existir ácidos urónicos (glucurónico, metilglucurónico e galacturónico) (Haluk & Irmouli, 1998).



Os componentes não estruturais da cortiça são moléculas pequenas, fáceis de remover por simples dissolução em solventes, sendo por isso designados por compostos extratáveis. Constituem um grupo muito variado, pertencendo a diferentes famílias químicas. Um grupo dos extrativos é constituído pelos restos da atividade metabólica das células e incluem os açúcares simples e porções dos próprios polímeros estruturais. O outro grupo de compostos é resultado do metabolismo secundário das plantas e inclui compostos do grupo dos taninos (condensados e hidrolisáveis), normalmente com funções fito-tóxicas, e do grupo dos triterpenos, envolvidos no reforço das propriedades de impermeabilidade das células (Sousa *et al.*, 2006).

Dentro da fração extraível da cortiça, os compostos fenólicos são de destacar uma vez que podem influenciar as características organoléticas (cor, aroma e sabor) dos vinhos que entram em contacto com a cortiça (Conde *et al.*, 1998).

Estes compostos de baixo peso molecular podem ser formados por processos de rutura da lenhina e da suberina durante o processo industrial de produção das rolhas (Cabral & Gil, 1988; García-Vallejo *et al.*, 1997; Kirk *et al.*, 1978).

Na Tabela 2 apresenta-se a constituição da cortiça segundo diferentes autores.

*Tabela 1. Constituição química da cortiça segundo diferentes autores (Natividade, 1950) (Guillemonat, 1960) (Lissia e Pes, 1984) (Pereira, 1988)*

<b>Natividade, 1950</b>		<b>(Guillemonat, 1960)</b>	
Composição	% da cortiça	Composição	% da cortiça
Suberina	58%	Suberina	45%
Celulose	22%	Lenhina	27%
Lenhina	12%	Celulose e outros polissacáridos	12%
Água	5%	Taninos	6%
Cerina	2%	Ceróides	5%
Outros	1%	Cinzas e outros	5%
<b>Lissia e Pes, 1984</b>		<b>Pereira, 1988</b>	
Composição	% da cortiça	Composição	% da cortiça
Substâncias de natureza tânica solúveis em água	10%	Cinzas	Virgem
Substâncias de natureza cerosa extratáveis por dissolventes	5%		Amadia
Substâncias saponificáveis (suberina)	45%	Extrativos	15.3%
Lenhina e celulose	30%	Suberina	38.6%
Águas, cinzas, etc	10%	Lenhina	21.7%
		Polissacáridos	18.2%
		Monossacáridos (% do Total)	
		Glucose	50.6
		Xilose	35%
		Arabinose	7.0%
		Galactose	3.6%
		Manose	2.8%
		Ramnose	1.7%

## 2.2.4 Qualidade da cortiça

Qualquer que seja a utilização da matéria-prima suberosa, desde a prancha para os mais requintados empregos em artigos de cortiça maciça, até aos granulados e aglomerados da mais modesta exigência, a importância da qualidade revela-se exuberantemente. (Carvalho, 1989).

A qualidade da cortiça pode-se traduzir nas suas propriedades mecânicas, físicas e químicas, e na sua homogeneidade. É atribuída às condições do meio uma influência na qualidade da cortiça, no entanto, apesar desta influência, os principais fatores responsáveis pela sua qualidade dizem respeito, fundamentalmente, à natureza genética da árvore produtora (Silva, 2010).

Alguns desses fatores responsáveis pela sua qualidade são:

### Porosidade

Na apreciação da qualidade da cortiça, as características de maior importância são sem dúvida o número de lentículas por unidade de superfície, a sua forma e as suas dimensões. No entanto, ao falar de qualidade e tendo em conta a porosidade, não se pode ter unicamente em consideração o número de poros existentes em determinada área de cortiça, mas principalmente a percentagem de área que esses poros ocupam.

Em cortiças de alta qualidade, as lentículas são apenas perceptíveis e, embora possam ser em grande número, não afetam significativamente as suas características. É o que acontece na cortiça flor (classe de qualidade extra ou superior), onde o diâmetro das lentículas é da ordem dos 0,5 a 1,0 mm. Infelizmente para o setor corticeiro o aparecimento de cortiça desta qualidade é cada vez mais escasso.

À medida que consideramos níveis mais elevados no tronco da árvore, e apesar de não haver alteração significativa do número de poros, a porosidade decresce devido fundamentalmente à redução dos diâmetros dos canais lenticulares, mas também à diminuição da espessura da cortiça. (Figura 3-5) (Natividade, 1950)

A porosidade da cortiça pode atingir valores muito elevados, próximos dos 30%. Neste caso, a cortiça designa-se por frouxa ou bofe. Este excesso de porosidade inferioriza extremamente a qualidade da cortiça, impedindo a sua utilização para o fabrico de produtos mais nobres. De qualquer forma, ela é adequada para a produção de aglomerados, ou mesmo, dado a baixa densidade que possui, à produção de material flutuante. (Liese *et al.*, 1983)

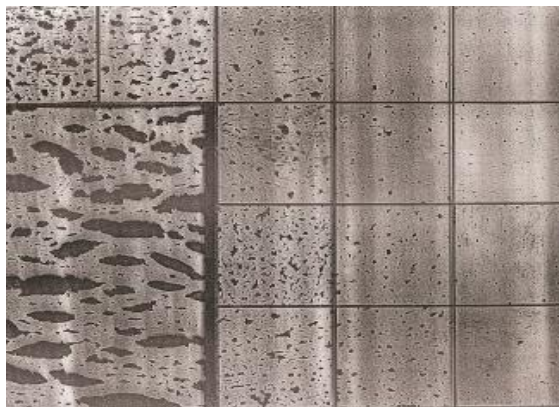


Figura 2-5 Aspeto de cortiças com diferentes porosidades. (Natividade, 1950)

## **Prego**

O prego e a madeira da cortiça dizem respeito à existência de maior ou menor quantidade de células esclerênquimatosas (células de paredes rígidas, fortemente lenhificadas e muito espessas) no tecido suberoso, perturbando a homogeneidade da cortiça e aumentando a sua densidade.

O prego aparece devido à incrustação, na superfície da assentada geradora, de células esclerosas dos raios liberinos que, à medida que se vai formando cortiça, ficam isolados e são empurrados para fora. (Natividade, 1948)

## **O verde**

O termo verde refere-se a regiões bem definidas de cortiça com teores de humidade muito elevadas, comparativamente à da cortiça que as rodeia.

Após o descortiçamento, o teor de humidade da cortiça é bastante elevado (cerca de 50%), diminuindo rapidamente e estabilizando nos 14% ao fim de dez dias de exposição ao ar (Adrados *et al*, 1994). Durante o processo de preparação da cortiça (consiste em cozê-la em água a 100°C durante 1 hora seguido de um período de repouso), a cortiça estabiliza o teor de humidade em 6 a 8%, sendo esta a humidade que possui quando vai ser utilizada (Reis, 1986). No que diz respeito à humidade do "verde" ela situa-se entre os 400 a 500% (Rosa, 1993).

A origem deste excesso de água em determinadas zonas da cortiça continua ainda hoje a ser desconhecida. Sabe-se que ele aparece tanto em cortiças virgens como nas amadias, independentemente da sua qualidade. Nas mesmas condições de solo e ambiente, árvores diferentes podem ou não apresentar *verde* e uma árvore que produza cortiça com este defeito num determinado descortiçamento pode, na extração seguinte produzir cortiça que não o apresenta (Rosa, 1993).

## **O marmoreado**

Este defeito tem origem na infestação da cortiça por um fungo de coloração azul (*Melophia ophiospora* Sacc.) cujo micélio atravessa as membranas das células, provocando manchas azuis escuras no tecido suberoso (Liese *et al.*, 1983).

A existência destas manchas escuras é frequente nos tecidos adjacentes aos canais lenticulares em cortiças muito porosas, visto a contaminação com microrganismos ser facilitada pela exposição ao ar e água a que estes tecidos estão sujeitos.

A nível estrutural, o marmoreado não provoca qualquer tipo de alteração comparativamente à cortiça não atacada pelo fungo (Natividade, 1950; Liese *et al.*, 1983).

## **Esfoliação**

A esfoliação caracteriza-se pela separação, em regiões mais ou menos restritas da prancha, de assentadas de células (Carvalho, 1989). A cortiça que apresenta este defeito diz-se folheada, solapada ou repelosa.

A origem deste defeito está ligada à perda drástica da folhagem por ataque da copa do sobreiro de *Lymantria dispar* L. (lagarta do sobreiro) ou como resultado do fogo. Em ambos os casos, a falta de assimilação das folhas traduz-se diretamente na atividade da felogéne que começa a produzir células com paredes demasiado finas (redução de 2 para 0,8 µm). No final da época de crescimento formam-se células com paredes mais espessas. É devido a esta heterogeneidade

(assim como às forças de tensão e compressão a que a prancha fica sujeita durante a extração) que pode ocorrer a rotura das paredes mais finas das células, e consequentemente a sua separação do restante tecido suberoso (Natividade, 1950; Liese *et al.*, 1983).

A desvalorização da cortiça devido à presença deste defeito depende muito da altura em que ele se forma. Assim, se houver separação de células nos primeiros ou últimos anos de formação da cortiça, a esfoliação pode ser removida, ficando a restante cortiça isenta deste defeito. (Liese *et al.*, 1983)

## **Enguiado**

Ao contrário do que acontece na formação do lenho, onde o crescimento é feito por adição periférica de novas células e o câmbio se ajusta gradualmente ao aumento da circunferência do tronco, no caso da cortiça a acumulação de células faz-se na parte interna da mesma, junto ao ventre da prancha. Deste modo, a parte exterior da cortiça, que constitui a raspa, não pode acompanhar o crescimento nem do lenho, nem tão pouco do próprio tecido suberoso, dando-se consequentemente o seu fendilhamento longitudinal, dito de outro modo, a compressão radial a que os tecidos ficam sujeitos provoca uma tração tangencial dos mesmos que se traduz na abertura de fendas longitudinais.

Quando estas fendas são profundas e largas, diminuindo consideravelmente a qualidade da cortiça, esta diz-se enguiada.

Este defeito, assim considerado unicamente pela desvalorização que introduz na cortiça, é tanto mais grave quanto mais intenso e pronunciado for. A sua intensidade está diretamente dependente da espessura da raspa (determinada pela profundidade a que se formou a nova felogene), da relação entre o crescimento da cortiça e o crescimento do xilema durante a estação vegetativa da relação entre a espessura da cortiça e o diâmetro do tronco (Liese *et al.*, 1983).

## **Causados por animais ou pragas**

O sobreiro é atacado por inúmeras espécies de insetos algumas das quais responsáveis por danos importantes verificados na cortiça. Estas pragas são geralmente relacionadas com práticas silvícolas inadequadas e algumas alterações do ecossistema, acompanhadas ocasionalmente por ocorrência de anos de seca. (Ferreira *et al.*, 1986)

Entre os defeitos mais importantes para a qualidade da cortiça destacam-se:

Cortiça formigada – Provocada pelo ataque de *Cremastogaster scutellaris* Oliv. (Formiga da cortiça). (Correia, 1965)

Cortiça cobrilhada - A lavra do *Coroebus undatus* Fabr. perfura a cortiça principalmente na área à volta da felogéne. (Liese *et al.*, 1983).

Cortiça picada - Tem origem nas perfurações que certas aves, à procura de alimento, imprimem à cortiça, como é o caso do pica-pau.

É importante referir ainda que para a indústria rolheira a espessura da cortiça é um parâmetro de qualidade de extrema importância, uma vez que para o fabrico de rolhas não podem ser usadas pranchas muito finas.

### 2.3 Efeito dos vedantes no vinho

O aparecimento de vedantes alternativos fez aumentar o interesse na compreensão do impacto dos diferentes vedantes no desenvolvimento do vinho. Estudos efetuados revelaram que os vedantes sintéticos possuem uma maior permeabilidade ao oxigénio enquanto que os vedantes screw-cap são muito pouco permeáveis, originando vinhos pouco oxidados. Os vedantes naturais de cortiça ocupam uma posição intermédia (Chatonnet *et al.*, 2000; Godden *et al.*, 2001; Mas *et al.*, 2002).

Alguns destes estudos demonstraram que a reduzida entrada de oxigénio nos vinhos engarrafados com screw-cap resulta em vinhos com baixos teores em aromas oxidados mas com aromas reduzidos indesejáveis ("struck flint"/"rubber"). Já os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos mostraram ser relativamente oxidados no aroma e com um menor teor em dióxido de enxofre quando comparados com vinhos selados com outros vedante (Skouroumounis *et al.*, 2005).

As propriedades intermédias das rolhas de cortiça geralmente resultam em vinhos equilibrados evitando-se a oxidação prematura do vinho sem contudo desenvolver aromas de redução desagradáveis. (Skouroumounis *et al.*, 2005).

Tanto nas rolhas de cortiça como nas rolhas sintéticas, existem trocas gasosas que evitam o aparecimento de tióis, compostos sulfurosos que acarretam maus cheiros. No caso dos vedantes screw-cap, a passagem de oxigénio que irá eliminar esses tióis e sulfuretos é praticamente inexistente, dando origem a maus odores nos vinhos, geralmente um ano depois de serem engarrafados (Skouroumounis *et al.*, 2005).

Verificou-se ainda que a utilização de vedantes sintéticos promove um acastanhamento da cor. Skouroumounis *et al.*, (2005) concluiu que 5 meses após o engarrafamento o aumento da absorvância a 420 nm (região dos amarelos/castanhos) seguia a ordem sintético > cortiça > screw-cap.

No que diz respeito aos parâmetros CIELab, o mesmo autor verificou que a utilização de diferentes vedantes condicionou o parâmetro L\* (luminosidade) e o parâmetro b\* (valores positivos relacionados com a tonalidade amarela). Vinhos mais claros (> L\*) foram selados com vedantes screw-cap ou com cortiça, enquanto que os vinhos mais opacos (< L\*) e com um valor de b\* superior foram selados com vedantes sintéticos.

É de referir que o desenvolvimento destes aromas reduzidos nos vinhos pode não depender exclusivamente das propriedades de barreira ao oxigénio dos vedantes. É igualmente dependente da composição do vinho, da presença de precursores destes aromas nos vinhos e da existência de outros compostos que possam influenciar a perceção destes aromas específicos (Skouroumounis *et al.*, 2005).

A elasticidade da cortiça é muito maior do que a de um material sintético, conseguindo adaptar se de forma correta às irregularidades internas do gargalo, garantindo uma perfeita vedação mesmo que o vidro se dilate ou contraia, algo que pode acontecer com a alteração da temperatura ambiente durante o transporte ou armazenamento. No caso das rolhas sintéticas, basta haver um fornecimento de garrafas com diferenças milimétricas no gargalo, para que o engarrafamento total seja todo prejudicado, originando oxidações prematuras.

A posição de armazenamento é outra variável que poderá afetar o ingresso de oxigénio e consequentemente o desenvolvimento do vinho. Mas *et al.*, (2002) referiu que nos vinhos selados com cortiça eram melhor conservados quando as garrafas eram armazenadas horizontalmente do que verticalmente. Em contrapartida, Skouroumounis *et al.*, (2005) mostrou que a orientação da garrafa durante o armazenamento tem pouca influência na composição e propriedades sensoriais do vinho branco.

Atualmente já existe uma aplicação em rolhas de cortiça de um revestimento polimérico, à base de silicone reticulado (PDMS), de modo a retardar a migração de compostos corados das rolhas para as bebidas alcoólicas. Em particular, o processo proporciona um revestimento polimérico que retarda significativamente a migração de compostos fenólicos/polifenólicos das rolhas para as bebidas alcoólicas brancas. (Amorim & Irmãos, S.A, 2012)

Esta invenção irá colmatar o problema de migração de matéria corante da rolha de cortiça para a bebida, através da aplicação de um revestimento em rolhas de cortiça por um processo que assegura que toda a superfície da rolha fica revestida, assim como os poros existentes na rolha. A elevada eficácia do revestimento obtido pelo processo dever-se-á ao facto de este impedir ou limitar muito significativamente a formação de poros no revestimento durante a sua aplicação. A entrada das rolhas de cortiça no mercado de bebidas brancas levará a uma consequente preocupação na existência de vestígios de cortiça, nomeadamente os resíduos de pó, parte integrante da temática desta dissertação.

## **2.4 O vinho e seus contaminantes**

A ameaça da entrada de novos vedantes que potencialmente eliminam os problemas relacionados com a utilização das rolhas de cortiça, nomeadamente o aroma/gosto a mofo resultante sobretudo do 2,4,6 – Tricloroanisol, criou a necessidade de fundamentar cientificamente a utilização da cortiça como vedante de qualidade. No entanto este problema não é o único a relacionar a cortiça e o vinho.

É tida em hipótese que durante o armazenamento e a maturação do vinho em garrafa podem ser extraídos da cortiça um vasto conjunto de compostos que participam ativamente numa série de reações com os constituintes do vinho, o que não acontece com vendantes sintéticos. Estas reações poderão resultar na formação de novos compostos que afetam a composição físico-química dos vinhos, conferindo-lhes características diferentes em termos de aroma, sabor e cor. O facto de que a cortiça “respira” permitindo trocas gasosas, poderá levar à criação de equilíbrios estáveis que propiciam a maturação e envelhecimento dos vinhos engarrafados, tendo em conta o fator económico e a presença cada vez mais auspiciosa no mercado dos mesmos. Por esta razão, a escolha da rolha em função do vinho e da garrafa e as boas condições durante a fase de engarrafamento e posterior armazenamento, são imprescindíveis para a criação de equilíbrios estáveis que propiciem a evolução dos vinhos engarrafados em vez da oxidação dos mesmos (Skouroumounis *et al.*, 2005).

O contacto entre o vinho e o oxigénio é crítico para a sua maturação em garrafa. Atualmente, é reconhecido que a qualidade de um vinho é prejudicada por uma exposição excessiva ao oxigénio, mas uma contínua e lenta oxigenação poderá ser benéfica para a evolução do mesmo, particularmente nas fases iniciais de maturação (Singleton *et al.*, 1979; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1983; Castelari *et al.*, 2002; Atanasova *et al.*, 2002).

A oxigenação moderada poderá ser positiva uma vez que as reações oxidativas a que os compostos fenólicos estão sujeitos podem realçar a cor e a reduzir a adstringência (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1983; Castelari *et al.*, 2002; Moutounet & Mazauric, 2000). Por outro lado, uma exposição excessiva ao oxigénio poderá levar ao aparecimento de alguns aromas aldeídicos indesejáveis e a um acastanhamento da cor (Singleton *et al.*, 1979; Escudero *et al.*, 2002) para além de que poderá provocar um aceleração da maturação dos vinhos.

Os compostos envolvidos nos processos oxidativos incluem o oxigénio (iniciador do processo), os compostos fenólicos (substratos oxidáveis que presumivelmente são os precursores de

pigmentos formados durante as reações de acastanhamento) e os iões metálicos como o  $\text{Fe}^{3+}$ , o  $\text{Cu}^{2+}$  e o  $\text{Mn}^{2+}$ , que atuam como catalisadores. Outros fatores como a temperatura, o pH e a luz também podem contribuir para estas reações (Macias *et al.*, 2001; Silva Ferreira *et al.*, 2002).

Para além da permeabilidade evidenciada por cada vedante ao oxigénio, muitos outros fatores poderão contribuir para a evolução do vinho (redutiva ou oxidativa). A composição inicial do vinho, a altura de enchimento do vinho, a concentração de dióxido de enxofre livre na altura do engarrafamento, a composição do gás no headspace, as condições da linha de engarrafamento, a temperatura e a humidade do local de armazenamento são outros fatores que contribuem para a sua evolução (Lopes *et al.*, 2006).

As rolhas de cortiça durante a sua produção passam por um processo de lavagem na qual é utilizado peróxido de hidrogénio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) para limpar e desinfetar, a existência de quantidades vestigiais em contato com o vinho pode ser prejudicial para o mesmo, podendo reagir adversamente com os níveis de dióxido de enxofre no vinho.

### 2.4.1 Reações de oxidação no vinho

A oxidação é uma reação na qual um átomo ou uma molécula perde um eletrão, podendo ocorrer ou não a adição de oxigénio e perda de hidrogénio (Waterhouse and Laurie, 2006). Oxigénio, além de denominar o elemento químico, designa também a molécula diatómica de oxigénio  $\text{O}_2$ . No estado fundamental esta molécula tem nos orbitais moleculares dois eletrões desemparelhados com o mesmo spin, de forma a ter o estado de mais baixa energia. O oxigénio no estado fundamental, que se denomina tripleto, é uma molécula muito estável e pouco reativa em comparação com radicais. Contudo, não é uma molécula inerte, podendo através do ganho sucessivo de eletrões formar espécies muito reativas. No meio líquido vinho a redução do oxigénio a tripleto é bastante improvável na ausência de luz, no entanto pode ocorrer devido à catálise do ferro (Danilewicz, 2003, du Toit *et al.*, 2006; Waterhouse & Laurie, 2006). O oxigénio pode-se converter na sua forma excitada, o singleto ( $^1\text{O}_2$ ), que apesar de não ser um radical livre, é muito reativa e eletrofílica (Figura 3-6). Através do ganho de outro eletrão, por exemplo da oxidação de um composto metálico, pode formar o radical anião superóxido  $\text{O}_2^{\cdot-}$ . Devido ao pH do vinho, este existirá na forma protonada formando o radical hidroperóxido ( $\text{HO}_2^{\cdot}$ ) (Figura 3-6). Por adição de outro eletrão forma-se o anião peróxido ( $\text{O}_2^{2-}$ ), que tal como a espécie anterior é protonado devido ao pH do vinho. A espécie formada, o peróxido de hidrogénio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), não é um radical (Figura 3-6) (Danilewicz, 2003), no entanto é o precursor de outra espécie muito reativa, o radical hidroxilo ( $\text{HO}^{\cdot}$ ). Devido à presença do ião ferro podem também ocorrer reações de Fenton ou de Haber-Weiss, através das quais se geram radicais hidroxilos ( $\text{OH}^{\cdot}$ ) ou hidróxido ( $\text{OH}^-$ ). O peróxido de hidrogénio pode resultar na produção de espécies de oxigénio muito reativas a partir de precursores pouco reativos (Danilewicz 2003).

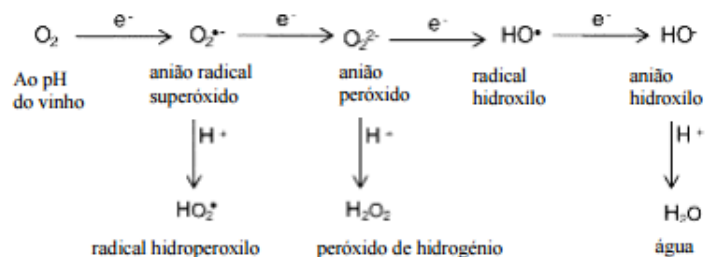


Figura 2-6. Esquema da redução do oxigénio (adaptado de Waterhouse and Laurie, 2006).

A Figura 3-6 esquematiza a formação das espécies derivadas do oxigénio tripleto que se designam genericamente, por espécies de oxigénio reativas (*reactive oxygen species* - ROS).

Neste grupo englobam-se os radicais (ânion superóxido, hidroperóxido, hidroxilo, peróxido, alcóxido) e as outras espécies com elevado potencial de oxidação ou que são facilmente convertidas em radicais, como por exemplo peróxido de hidrogénio, ozono e o oxigénio singleto. A reatividade destas espécies de oxigénio aumenta à medida que o nível de redução aumenta: tripleto <superóxido <radical hidroperóxido <ânion peróxido <radical hidroxilo. Estas espécies reativas estão envolvidas em múltiplos mecanismos de oxidação através de reações em cadeia com diferentes substratos orgânicos, como radicais lípidos ou oxigénio, que levam a danos oxidativos (Karbowiak *et al.* 2010).

Autoxidação refere-se à reação autocatalítica entre oxigénio atmosférico e compostos orgânicos, que é descrito como um processo de três passos: iniciação, propagação e terminação. A iniciação caracteriza-se pela formação de novos radicais livres, a partir de espécies estáveis. Na propagação os radicais livres podem regenerar-se, resultando em diversos compostos de oxidação. A reação termina quando os radicais livres se combinam com outros radicais livres ou moléculas antioxidantes, dando origem a produtos não radicalares - terminação (Figura 3-7).

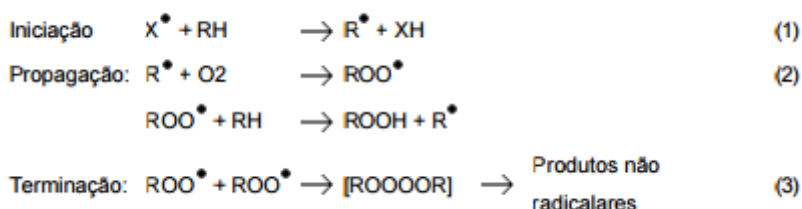


Figura 2-7. Esquema da autoxidação de compostos orgânicos.

A formação de espécies de oxigénio reativas é necessária para compreender a forma como o oxigénio pode iniciar os processos de oxidação do vinho. Por este motivo a introdução de oxigénio no vinho pode levar a formação de composto com grande capacidade de redução (Karbowiak *et al.* 2010).

O peróxido de hidrogénio é ainda um dos oxidantes mais versáteis que existe, superior ao cloro, dióxido de cloro e permanganato de potássio. É de extrema importância que não existam vestígios deste nas rolhas de cortiça, posteriormente em contato com o vinho.



## 3 . Caso de Estudo

### 3.1 Corticeira Amorim

A Corticeira Amorim é a maior empresa mundial de produtos de cortiça e uma das mais internacionais empresas portuguesas. É líder em todo o setor há 146 anos, contribuindo de forma inequívoca para a economia e para a inovação da fileira da cortiça.

A origem da empresa remonta a 1870, ano em que António Alves de Amorim fundou uma fábrica de produção manual de rolhas de cortiça para vinho do Porto. (Amorim, 2016)

A evolução que se verificou na empresa, de pequena fábrica situada no Porto a líder no mercado da cortiça está diretamente relacionada com a verticalização assumida pela empresa desde a obtenção de matérias-primas ao serviço pós-venda, com uma grande aposta em mercados internacionais, principalmente em mercados com forte expressão na produção de vinho, e também devido ao forte investimento em atividades de Inovação e Desenvolvimento.

Atualmente a Amorim detém 35% da transformação mundial de cortiça, possui cerca de 22 mil clientes ativos em 103 países e apresenta um volume de negócios de 605 milhões de euros, contando com cerca de 3 350 colaboradores. A sua presença mundial encontra-se distribuída por 248 principais agentes, 83 empresas e 30 unidades industriais. A sua presença está dividida em cinco principais unidades de negócio: rolhas, matérias-primas, aglomerados compósitos, revestimentos e isolamentos. (Amorim, 2016)

Como empresa líder, a qualidade dos produtos é de extrema importância e por isso tem-se verificado um grande investimento em Inovação e Desenvolvimento, cerca de 5 milhões de euros anualmente. Como marco mais importante, este departamento conseguiu minimizar os valores de 2,4,6 Trichloroanisol (TCA) presente nas rolhas, elemento responsável pelo indesejável sabor a cortiça no vinho. É também responsável por uma melhoria contínua dos processos e dos produtos apresentados pela Corticeira Amorim. (Amorim, 2016)

É importante destacar também que esta empresa procura colaborar com vários setores do mercado de modo a promover a matéria-prima, assim como as suas qualidades e vantagens face a outros produtos. Por exemplo, os Pavimentos Wicanders, da Amorim Revestimentos, revestem a mítica Sagrada Família, de Gaudí em Barcelona (Figura 2-1 a). Outro exemplo, é o Pavilhão de Portugal na Expo Xangai, que foi integralmente revestido a cortiça e distinguido com o Prémio *Design*. (Figura 2-1 b)



Figura 3-1 a) Pavimentos Wicanders (Sagrada Família 2011) b) Pavilhão de Portugal na Expo Xangai (2010).

### 3.1.1 Estrutura da Empresa

A Corticeira Amorim S.G.P.S., S.A, presidida por António Rios de Amorim, é uma *holding* do Grupo Amorim. Este grupo é líder mundial na indústria da cortiça, apesar disso apresenta uma diversificação dos seus negócios para ramos tão distintos como o turismo, a imobiliária, as telecomunicações ou os têxteis.

Esta empresa apresenta a estrutura formal representada no organograma da Figura 2-2.

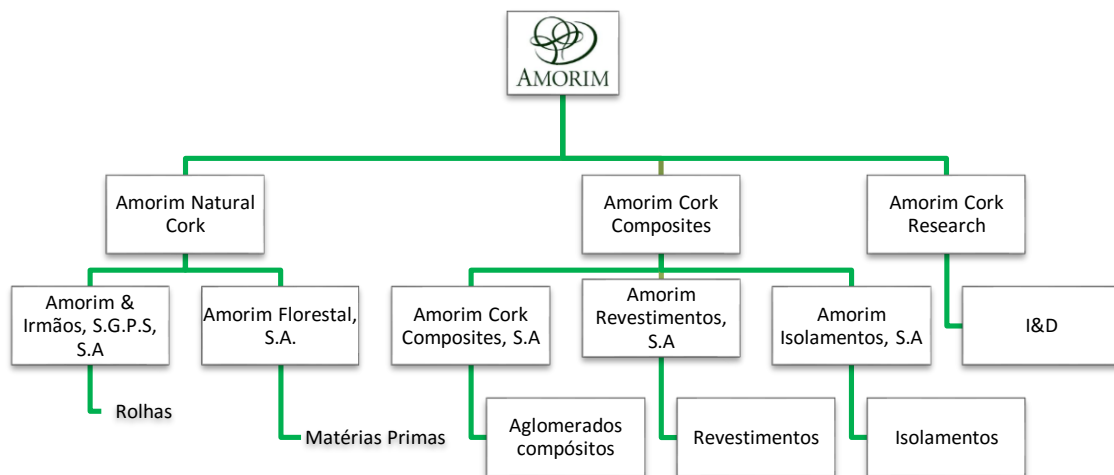


Figura 3-2. Organograma da Corticeira Amorim.

### 3.2 Unidade Industrial – Equipar

A Amorim & Irmãos, S.G.P.S, S.A. é a unidade de negócio que produz e comercializa rolhas e é constituída por 8 unidades industriais, onde se insere a Unidade Industrial Equipar S.A., que foi adquirida pelo grupo em 2006. Esta unidade encontra-se situada em Coruche (Figura 2-3), vila que é reconhecida como sendo a capital mundial da cortiça (título não oficial). Esta unidade trabalha 24 horas por dia, tem um quadro de pessoal com 170 colaboradores e produz cerca de 5 milhões de rolhas diariamente. Apresenta um volume anual de vendas de 50 milhões de euros.

A unidade industrial encontra-se dividida em cinco segmentos de acordo com a produção de diferentes produtos, nomeadamente:

- Cozedura: Local de cozedura de aparas de cortiça;
- Trituração: Produção de granulados;
- Agglomerada: Produção de rolhas de cortiça aglomerada;
- Twin Top: Produção de rolhas técnicas com disco;
- Distribuição: Marcação e tratamento de rolhas.

Na Figura 2-3 pode-se ver as principais zonas onde o sobreiro está presente em Portugal e a proximidade desta unidade industrial às mesmas, assim como a vista aérea.




*Figura 3-3. Montado de sobreiro em Portugal e localização de Coruche (APCOR, 2015).  
Vista aérea da UI-Equipar.*

### 3.2.1 Produtos


Na ampla gama de produtos destacam-se as rolhas:

#### Rolha Aglomerada

	<p>Uma rolha formada por um corpo de granulado aglomerado pela ação de produtos aglomerantes. Ideal para vinhos de consumo rápido. Concilia na perfeição os fatores preço e boa performance. É recomendada para vinhos a consumir no prazo de seis meses após o engarrafamento. (Catálogo Amorim)</p>
---	---

*Figura 3-4. Rolha Aglomerada: Caraterísticas.*

#### Rolha Twin Top®

	<p>Uma rolha técnica baseada na tecnologia de produção da rolha de champanhe. É constituída por um disco de cortiça natural em ambos os topos e um corpo aglomerado. Ideal para vinhos frutados e aconselhada para vinhos não destinados a um longo período de estágio na garrafa. (Catálogo Amorim)</p>
---	--

*Figura 3-5 Rolha Twin Top®: Caraterísticas.*

## Rolha Advantec® e Advantec Colours®






	<p>Uma inovadora rolha técnica revestida que integra todas as medidas preventivas e corretivas de combate ao TCA, incluindo o internacionalmente conhecido Sistema ROSA®.</p> <p>Criada com o intuito de ser uma referência nos vedantes para vinhos de grande rotação, assumindo-se como uma solução imbatível em termos de preço e desempenho sensorial e técnico. (Catálogo Amorim)</p>
	<p>Lançada em 2012, a nova linha <i>Advantec Colours®</i> é direcionada para um público jovem e para bebidas de consumo rápido. Esta inovadora rolha técnica pretende impressionar o consumidor e dar resposta às necessidades emergentes do mercado, permitindo a combinação da cor da rolha com os elementos decorativos do produto.</p>

Figura 3-6 Rolha Advantec® e Advantec Colours®: Características.

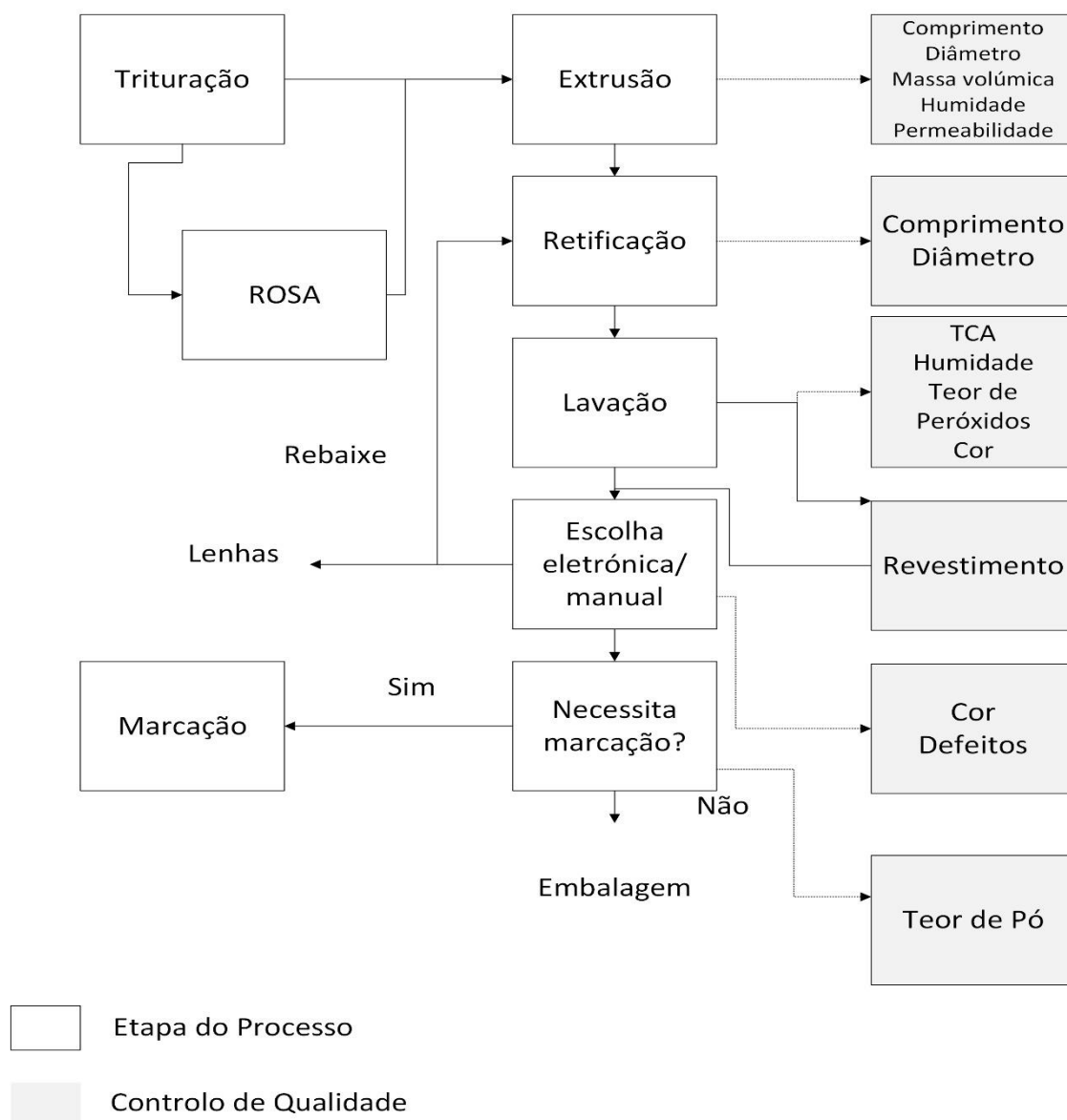
E os granulados:

Tabela 2. Granulados produzidos na Unidade Industrial Equipar

Figura	Granulado	Descrição	Intervalo de diâmetros (mm)
	<p>RCT (Rolha Champanhe e Técnica)</p>	<p>Granulado de cortiça de maior granulometria.</p>	<p>3 - 7</p>
	<p>RA (Rolha Aglomerada)</p>	<p>Granulado de cortiça de granulometria intermédia.</p>	<p>2 – 3</p>
	<p>RN (Rolha <i>Neutrocork®</i>)</p>	<p>Granulado de cortiça de granulometria fina.</p>	<p>1 - 2</p>
	<p>MD/ BD</p>	<p>Granulados não destinados à produção de rolha. São provenientes da trituração de cortiça e representativos da sua fração de menor dimensão.</p>	<p>0.5 - 1</p>
	<p>AD</p>		<p>0.5 - 1</p>
	<p>ADT</p>		<p>1 - 2</p>

### 3.3 Processo de produção de rolhas

Na Figura 2-7 apresenta-se o diagrama de fluxos respeitante ao processo produtivo desta unidade, neste caso relativamente ao processo de produção de rolhas aglomeradas.



*Figura 3-7 Processo produtivo de rolhas aglomeradas.*

Na Unidade Industrial Equipar são produzidos dois tipos de rolhas: as técnicas e as aglomeradas. A rolha técnica difere da aglomerada no fato de incorporar discos de cortiça natural. A rolha aglomerada é composta apenas por um corpo de cortiça aglomerada, ao qual se adiciona cola, latex e óleos parafínicos.

Etapas do processo:

### **Trituração**

O objetivo da trituração é a produção de granulados de cortiça, cujo seu destino será o consumo ou venda. São utilizados diversos tipos de matérias-primas nesta etapa, alguns deles encontram-se na Figura 2-8.



*Figura 3-8. Matéria-prima para a trituração: apara especial, apara refugo, apara broca.*

### **ROSA**

Após a trituração, os granulados poderão sofrer um tratamento para eliminação do TCA, composto identificado como principal causador de efeitos prejudiciais ao vinho (tais como, gosto e cheiro a mofo).

Na UI-Equipar existem três sistemas de ROSA, todos eles funcionando de maneira semelhante:

- Sistema ROSA: Aplicado a granulados RA;
- Sistema ROSA Hitec: Aplicado a granulado que tem como finalidade a produção de rolhas aglomeradas (Figura 2-9);
- Sistema ROSA Hard: Aplicado a granulado que tem como finalidade a produção de rolhas Twin Top.

Este sistema denominado ROSA consiste num tratamento térmico, na qual quantidades controladas de vapor de água, sobre pressão, visam reduzir os níveis de TCA dos granulados. É importante salientar que neste processo também ocorre a correção da humidade, não afetando a massa volúmica do granulado em questão.



*Figura 3-9 Sistema ROSA Hitec.*



## Extrusão

Existem duas zonas de extrusão na UI-Equipar, a extrusão AGLO e a extrusão Twin Top, tal como o nome indica diferem no tipo de rolha a que os corpos produzidos estão destinados.

Nesta etapa começa-se por fazer uma mistura do granulado com a cola, látex e parafina. As quantidades de cada componente da mistura estão previamente estabelecidas, com intervalos de mistura entre adições. O operador apenas escolhe a receita que se adequa ao tipo de rolha pretendido. Esta mistura após concluída é depositada num carro de abastecimento que alimenta as extrusoras assim que estas atingem um nível baixo e pré-definido de mistura no seu interior. (Figura 2-10)

A extrusão ocorre a uma temperatura entre 115 a 150° C (podendo variar um pouco de extrusora para extrusora). É extrudido, continuamente, um bastão de cortiça aglomerada que, após um corte com o auxílio de lâminas, origina corpos com um comprimento e diâmetro consoante as dimensões do produto final. Os corpos caem num tapete rolante e terminam nas girafas de alimentação dos cestos de corpos (cerca de 20 000 corpos por cesto). (Figura 2-10)

A extrusão na Unidade de Aglomerados é constituída por quatro linhas de extrusão, cada uma composta por dois lados, cada um com oito extrusoras. Destas quatro linhas, três são dedicadas à extrusão de granulado RCT e uma à de granulado RA.



*Figura 3-10 Lado esquerdo: misturadora. Lado direito: linha de extrusão Twin Top.*

Após a extrusão, os corpos seguem para armazenamento nos silos até serem necessários à alimentação das linhas de retificação.

## Topejamento e Colagem

No caso das rolhas Twin Top (Figura 2-11), após a extrusão dos corpos que são produzidos na Linha 4 tem que ser feita uma correção do seu comprimento, através do topejamento. Posteriormente, ocorre a colagem dos discos, estes são selecionados por categorias (AA, A, B e C), é marcado o pior lado do disco e a colagem é feita de acordo com o produto final pretendido. (Figura 2-11)



*Figura 3-11. Lado esquerdo: Colagem de discos numa rolha TT e numa rolha 0+2. Lado direito: Escolha do melhor lado do disco.*

## Retificação

Nesta etapa os corpos são retificados de forma a adquirirem as configurações finais desejadas. É dividida em três partes a Retificação, correspondendo cada uma a uma máquina diferente. Os corpos provenientes da extrusão passam primeiro por uma ponçadeira, que retifica o diâmetro final pretendido; de seguida é retificado o comprimento através de uma topejadeira e por último passam por chanfradeiras onde é então feito o acabamento final da rolha, podendo a máquina ser ajustada para chanfrar um dos topos do corpo ou ambos (no caso das rolhas aglomeradas). (Figura 2-12)



*Figura 3-12. Linhas e cestos de retificação AGLO.*

O controlo de qualidade efetuado destina-se a comparar o comprimento e o diâmetro das rolhas obtidas na retificação com as dimensões finais pretendidas.

## Lavação

Após a retificação dos corpos estes seguem para a lavação. Nesta etapa as rolhas, já com as suas configurações finais, são lavadas usando para esse efeito peróxido de hidrogénio, soda caustica, tintas e coadjuvantes (no caso de rolhas Advantec).

Existem doze máquinas responsáveis por conferir às rolhas uma superfície homogénea e a estabilidade química. Duas destas encontram-se destinadas à lavação de rolha Advantec, e as restantes às lavações do tipo Standard (STD ou CL2000), Natural (ou CL0) e do tipo Cerveja. (Figura 2-13)



*Figura 3-13. Zona de lavação AGLO.*



## Revestimento

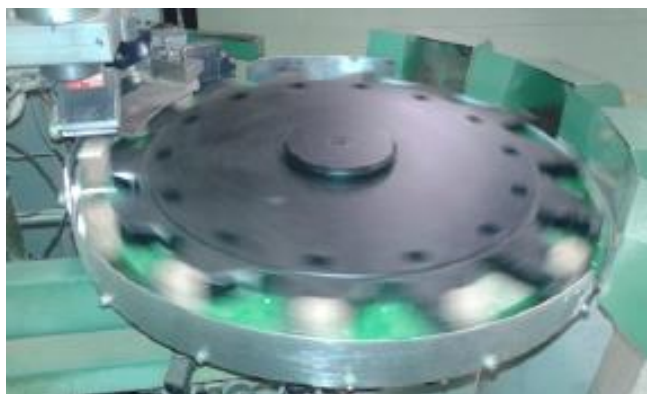
A rolha Advantec é o tipo de rolha que passa por esta etapa. As rolhas são revestidas com uma tinta consoante o requisito estabelecido previamente pelo cliente.

## Escolha Manual/Eletrónica

Nesta etapa as rolhas são avaliadas e excluídas consoante a existência de defeitos. É feita uma avaliação a ambos os topos, superior e inferior, e ao corpo das rolhas. Esta escolha pode ser feita automaticamente com recurso a máquinas (escolha eletrónica) como ilustrado na Figura 2-14, ou manualmente com recurso a pessoal especializado.

No caso de ser detetado algum defeito estas serão reaproveitadas e retificadas, dando origem a rolhas de calibre inferior (rebaixe). Por vezes surgem defeitos mais acentuados, nesse caso as rolhas não podem ser reaproveitadas para formar novos tipos de rolha, mas sim direcionadas para outros produtos de menor valor acrescentado (lenhas).

Após a escolha, as rolhas seguem para o supermercado e irão ser recolhidas posteriormente para embalagem ou marcação.



*Figura 3-14. Escolha eletrónica.*

## Marcação

São feitos dois tipos de marcação na EQD, a marcação com tinta e a marcação com fogo (Figura 2-15). Estas marcações são feitas de acordo com as preferências do cliente a que se destinam, as rolhas terão assim a marca do cliente, ou qualquer outra informação (Figura 2-15). Esta marca pode ser feita no topo, corpo ou em ambos (a marcação a tinta é apenas feita no corpo das rolhas).



*Figura 3-15. Lado direito: zona de marcação a fogo. Lado esquerdo: rolhas marcadas a fogo e tinta, respetivamente.*

## Tratamento

Após a marcação, as rolhas recebem um tratamento com um elastómero e silicone que atua nas forças de inserção e extração na garrafa (Figura 2-16). De seguida, as rolhas são encaminhadas para a zona de embalagem de produto acabado, onde são contadas, analisadas quanto à presença de metais e embaladas em sacos de plástico e caixas de cartão. Até à sua expedição, permanecem na zona de armazenagem.



*Figura 3-16. Zona de tratamento.*

## Embalagem

As rolhas são embaladas e contadas consoante o seu destino. (Figura 2-17) São normalmente embaladas em sacos de rafia (no caso de rolhas que não estão marcadas nem tratadas) com capacidade para 5 000 rolhas, e de seguida são paletizadas, identificadas e encaminhadas para a armazenagem.



*Figura 3-17. Zona de embalagem.*

## 3.4 Controlo da Qualidade

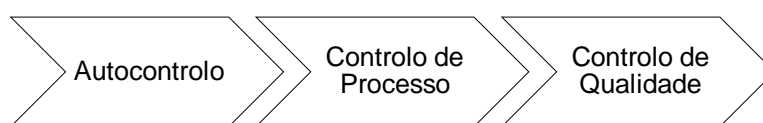
O Controlo da Qualidade é uma avaliação adotada por algumas organizações de diferentes segmentos em todo mundo para definir padrões de qualidade em procedimentos, políticas e ações, de maneira uniforme, garantindo que uma vez definidos são cumpridos através de normas. Esta avaliação tem em consideração o grau de satisfação do consumidor, dos acionistas, dos funcionários, dos fornecedores e da sociedade, como um todo.

No grupo Amorim este conceito é tido em conta e é promovido o espírito de compromisso e responsabilidade desde os órgãos máximos aos colaboradores. É feito um controlo da matéria-prima à entrada, durante o processo e já transformada em produto final. Os produtos à entrada são submetidos a vários controlos, nomeadamente:

1. Quantificação de humidade;
2. Quantificação de TCA;
3. Análise Visual.

Ao longo de todo o processo o produto é acompanhado e centrado nos operadores e é controlado pela equipa de controlo de processo e pela equipa de controlo da qualidade.

A área da qualidade está organizada da seguinte forma (Figura 2-18):



*Figura 3-18. Fluxograma da organização da Qualidade.*

O autocontrolo é uma ferramenta utilizada na Equipar com o objetivo de juntar as pessoas que fazem a produção e as pessoas que controlam a produção. Os operadores realizam as tarefas assegurando a conformidade e a qualidade das mesmas. Os registos do controlo podem ser feitos em cartas de controlo.

O controlo de processo é desempenhado por uma equipa que avalia o desempenho do processo, tendo por base as metas da qualidade. O controlo é feito através de várias ferramentas, como por exemplo as cartas de controlo, sendo feita a verificação do preenchimento das mesmas. Estas cartas de controlo servem para a reunião de uma maior quantidade de informação que permita facilmente perceber o estado do processo e atuar nesse sentido.

O controlo de processo é desempenhado por uma equipa que avalia o estado do produto em várias fases, à entrada, durante o processo e à saída. O controlo é feito através de análises no laboratório de linha.

São controlados parâmetros tais como:

1. Dimensões da rolha;
2. Humidade da rolha;
3. Massa volúmica das rolhas;
4. TCA;
5. Classe visual.

### **3.5 Laboratório da Qualidade**

O Laboratório da Qualidade da UI-Equipar encontra-se dividido em zonas distintas, sendo de referir a zona de receção de amostras, zona de preparação de macerações, sala de cromatografia, sala de fervuras, sala de análise sensorial, e ainda uma zona ampla destinada à realização de diversos ensaios.

Este laboratório conta diariamente com o trabalho de cerca de 5 colaboradores, incluindo um estagiário. O principal foco é assegurar o controlo e a qualidade dos produtos, desde a receção até à expedição; validar e disponibilizar os relatórios de ensaio aos clientes; apoiar a assistência pré e pós-venda e ainda a análise e respostas a reclamações.

É importante salientar também um dos principais objetivos do laboratório que passa pelo controlo do teor de TCA, que é feito através de cromatografia gasosa, uma técnica de separação de uma amostra em várias frações e posterior medição ou identificação das mesmas.

As principais atividades desenvolvidas no laboratório são:

### **Preparação de macerações**

A maceração tem como objetivo a extração dos compostos voláteis da cortiça. Esta operação consiste numa extração sólido/líquido e é feita através da imersão do material que se pretende analisar (apara – Figura 2-19 a), granulado, rolha- Figura 2-19 b) ou disco de cortiça) num líquido. Neste processo o material é colocado num frasco com solução etanólica a 12% (v/v) tentando simular o contacto da cortiça com vinho. Diariamente são efetuadas uma média de 180 macerações.



*Figura 3-19.a) Macerações de aparas. b) Macerações de rolha.*

Após um período em estufa, que varia consoante o produto, o macerado repousa à temperatura ambiente e posteriormente é pipetado com o objetivo final de ir para a análise de cromatografia para determinação de TCA.

### **Análise Cromatográfica**

Na análise cromatográfica utiliza-se o método do padrão interno. (Figura 2-20) Após o tempo de maceração, o macerado é pipetado para vials, numa quantidade de 10 ml, sendo também adicionado o TCA3 (2,3,6 – Tricloroanisol), o padrão interno com concentração de 2ppb, de modo a obtermos uma concentração na amostra de 20 ppt. Os frascos são fechados imediatamente, por forma a estancar o conteúdo. Este processo de pipetagem e adição do padrão interno tem de ser efetuado rapidamente uma vez que o TCA é extremamente volátil. No arranque do dia de leituras no cromatógrafo é utilizado um branco (solução etanólica utilizada na maceração).



*Figura 3-20. Cromatógrafo utilizado para deteção de TCA.*

## **Análise Sensorial**

A análise sensorial é feita em rolhas e discos, tendo em consideração a data de entrada lote, a origem e a data de produção. São feitas 50 macerações de cada origem, são analisadas organoleticamente e os “off-flavours” detetados vão todos ao cromatógrafo exceto o descritivo vegetal.

### **3.5.1 Métodos de ensaio**

Os principais ensaios laboratoriais realizados são:

#### **Ensaio de torção**

Este ensaio é efetuado a todas as amostras de rolhas aglomeradas com calibre superior a 25 mm e sempre que esteja especificado pelo cliente na carteira de encomendas. Neste ensaio são determinados o momento e o ângulo de torção no ponto de rutura da rolha, quando esta é sujeita a torção axial. O valor médio para o momento de torção da amostra, é a média aritmética dos valores dos ângulos lidos. O momento de torção é a média aritmética dos valores dos momentos lidos. O ângulo é expresso em grau. O equipamento utilizado neste ensaio é o Torsilab (Figura 2-21).



*Figura 3-21. Ensaio de torção: Torsilab.*

#### **Vedação**

Com este método pretende-se avaliar o comportamento à vedação ao líquido, de rolhas de cortiça. É feita uma verificação do comportamento das rolhas, simulando a vedação em tubos cilíndricos ou cónicos, com a aplicação de diferentes pressões internas. (Figura 2-22)



*Figura 3-22. Teste de vedação.*

### **Teste de fervura**

É efetuado este ensaio com o intuito de verificar a resistência de rolhas ou corpos aglomerados à fervura. Este método destina-se também, a determinar a resistência à colagem em rolhas técnicas compostas por discos de cortiça natural, acabadas de colar. É feito ainda um teste de tração de disco.

### **Absorção em garrafa**

Pretende-se com este método estabelecer o modo operativo para avaliar a absorção de vinho (ou de outra solução) em garrafa por rolhas de cortiça. Este método permite ainda avaliar o comportamento à vedação em garrafa. Aplica-se a rolhas de cortiça com tratamento de superfície.

### **Capilaridade**

Com este método pretende-se verificar a eficácia do tratamento de superfície no que diz respeito à capilaridade. Nomeadamente, pretende-se verificar a ascensão do vinho quando colocado em contato com o topo das rolhas de cortiça (Figura 2-23), durante um período de 24 horas. Este ensaio só é realizado quando o cliente assim o exige.



*Figura 3-23. Ensaio de capilaridade.*

### **Determinação da força de extração**

Pretende-se com este método determinar a força de extração de rolhas de cortiça. É feita uma avaliação da força necessária para retirar uma rolha da garrafa, recorrendo a um dinamómetro. Aplica-se a rolhas de cortiça cilíndricas com tratamento de superfície.

### **Teste da bomba**

Neste teste as rolhas de cortiça são submetidas a condições de pressão de 6 bar, posteriormente são colocadas de pé em papel de filtro durante 1 hora, pesadas mais uma vez e vão à estufa a secar durante 36h, para que possa ser pesado ainda mais uma vez. Este teste tem por objetivo verificar a absorção por parte das rolhas.

### **Determinação da humidade do granulado**

Este ensaio é realizado com o auxílio de um analisador de humidade eletrónico que, num curto espaço de tempo (cerca de 15 minutos), lê o valor de humidade do granulado.

**Determinação da humidade da apara**

Com este ensaio pretende-se averiguar a humidade da apara, para esse efeito é feita a sua pesagem antes e após ir por um período de 24 horas à estufa, regulada para  $103 \pm 5$  °C.

**Determinação do Teor de Pó**

Com este método pretende-se determinar o pó cedido por rolhas de cortiça, em contato com água filtrada.

**Determinação do Teor de Peróxidos**

Pretende-se determinar o teor de peróxidos residual em rolhas de cortiça.





## 4 . Aplicação de metodologia Lean

Numa abordagem de melhoria contínua de processos, diferenciar as atividades de valor acrescentado das atividades de valor não acrescentado tornou-se essencial com vista a facilmente se identificarem e reduzirem as fontes geradoras de desperdício, responsáveis por grande parte dos custos de uma organização.

Com o auxílio de diversas técnicas e ferramentas, o pensamento Lean visa criar um fluxo contínuo nas atividades, com o intuito de gerar valor segundo a perspetiva do cliente final.

### 4.1 Kaizen

A filosofia Kaizen é útil tanto no desenvolvimento de novos conceitos para um produto, como no desenvolvimento de ações que visam eliminar desperdícios nas fábricas e melhorar o conforto e a segurança dos colaboradores e cliente com o objetivo da melhoria contínua (Vieira *et al.*, 2012). Kaizen é uma filosofia para a qual soluções e processos tornam os problemas evidentes, enquanto treinam e desenvolvem as suas equipas para os resolver. A redução do desperdício deve ser uma preocupação constante.

A metodologia Kaizen sustenta que diariamente tem de acontecer alguma alteração quer ao nível da estrutura quer ao nível da infraestrutura da empresa, por mínima que seja deve acontecer sempre com vista à melhoria contínua.

Na UI-Equipar são realizadas diariamente reuniões “+5 minutos”, onde é feito o alinhamento das equipas e definidas as metas e objetivos. No laboratório da unidade são definidas metas, como por exemplo a organização de forma a conseguir a realização de 180 macerações diárias, não sendo atingida esta meta levará a que ocorram atrasos posteriores, como nas leituras cromatográficas para deteção de TCA.

### 4.2 Metodologia 5S

A ferramenta 5S é aplicada com o intuito de manter os postos de trabalho organizados e limpos. Considerada a base da melhoria contínua, promove a eliminação de erros e defeitos, a redução de custos e o aumento da segurança.

A utilização desta ferramenta permite que os intervenientes façam a distinção entre situações normais e situação invulgares, conduzindo a uma melhoria significativa dos processos e dos produtos.

A metodologia baseia-se em cinco princípios (Figura 4-1), com origem no Japão, descritos em seguida (George, 2005):

1. **Classificar** (*Seiri*): Remover do posto de trabalho tudo o que não é necessário para a realização das tarefas do operador. Esta prática envolve identificar todo o material que é utilizado diariamente e, de seguida, eliminar da área de trabalho o que não é necessário regularmente, ou o que não é utilizado há muito tempo.
2. **Ordenar** (*Seiton*): Organizar e identificar os artigos existentes num posto de trabalho, de maneira a facilitar a sua utilização. Aplicando os princípios da economia do tempo e do movimento, devem-se organizar os objetos e alocá-los num sítio permanente e definitivo,

com o objetivo de simplificar a sua utilização por parte de qualquer indivíduo. (John *et al.*, 2008)

3. **Limpar** (*Seiso*): Limpar e inspecionar o local de trabalho, que deve estar livre de sujidade, impurezas ou qualquer material considerado desperdício. Uma vez que as áreas de trabalho precisam ser regularmente limpas, devem ser definidos procedimentos de limpeza periódica do espaço bem como serem propostos objetivos e agendar auditorias. (John *et al.*, 2008)
4. **Padronizar** (*Seiketsu*): Criar um método consistente de como desempenhar as tarefas diárias do operador, incluindo a implementação dos 3S iniciais. O objetivo da padronização passa por levar os intervenientes a executarem as tarefas sempre de forma correta. Para que o objetivo da limpeza seja cumprido deve-se criar, por exemplo, uma folha de registo que identifica o que tem que ser limpo e quando, em cada turno de trabalho.
5. **Sustentar** (*Shitsuke*): Assegurar uma disciplina de melhoria contínua dentro da organização, de modo a que a implementação da ferramenta 5S permita obter resultados positivos a longo prazo.

Para que a implementação da ferramenta 5S ocorra com sucesso é necessário realizar auditorias que avaliem o estado e evolução do trabalho de cada equipa e fomentem o envolvimento das pessoas a fim de haver interesse, iniciativa e resultados.

Assim, o seguimento dos cinco princípios descritos anteriormente, torna possível a eliminação de vários tipos de muda e permite uma maior visualização dos problemas existentes aquando da sua implementação.

Posto isto, o principal objetivo da prática dos 5S é o aumento da produtividade conjugado com a maximização do nível de saúde assim como da segurança dos trabalhadores. Por esta razão a ferramenta 5S é também importante da redefinição de *layouts*, que além de tornarem as zonas de trabalho mais limpas, tornam as equipas de trabalho mais coordenadas (Melton, 2005).

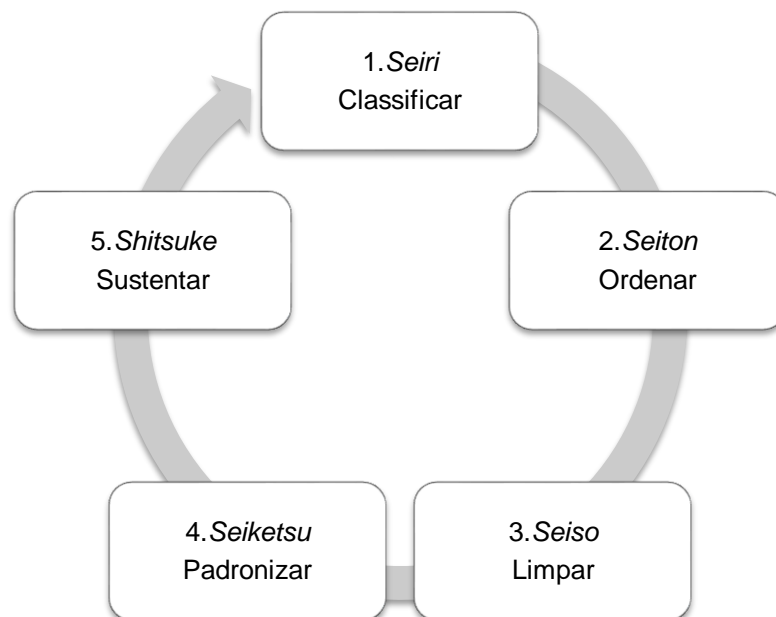


Figura 4-1 Etapas da metodologia 5S.

### 4.2.1 Aplicação da ferramenta 5S

Para a implementação de ferramentas 5S no Laboratório da UI-Equipar, começou-se por identificar o problema, a sua causa e posteriormente a solução. Em baixo encontra-se descrita toda a informação, assim como as figuras ilustrativas do antes e depois:

#### 1. Organização de amostras de granulados

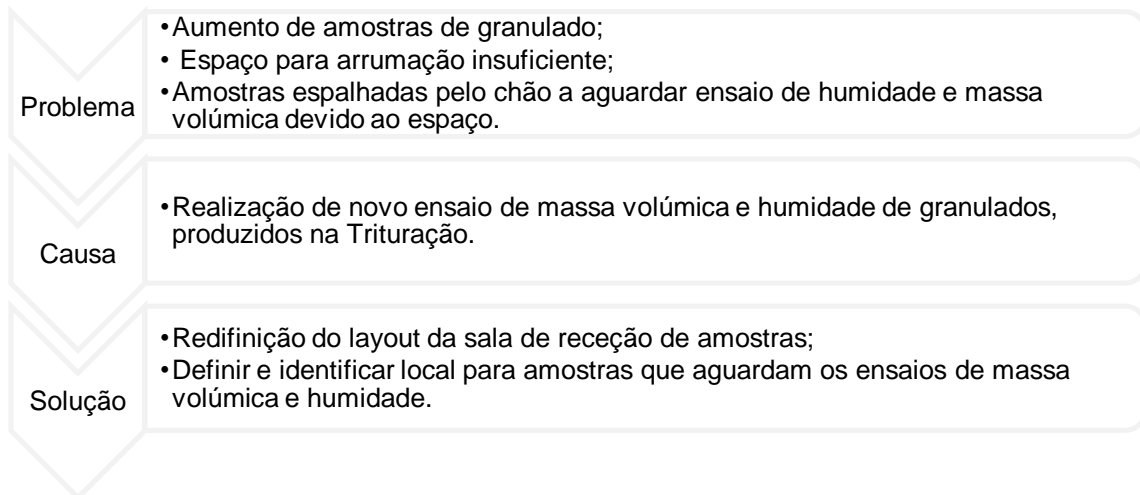


Figura 4-2 Organização de amostras de granulados: antes e depois.

#### 2. Arrumação de tabuleiros

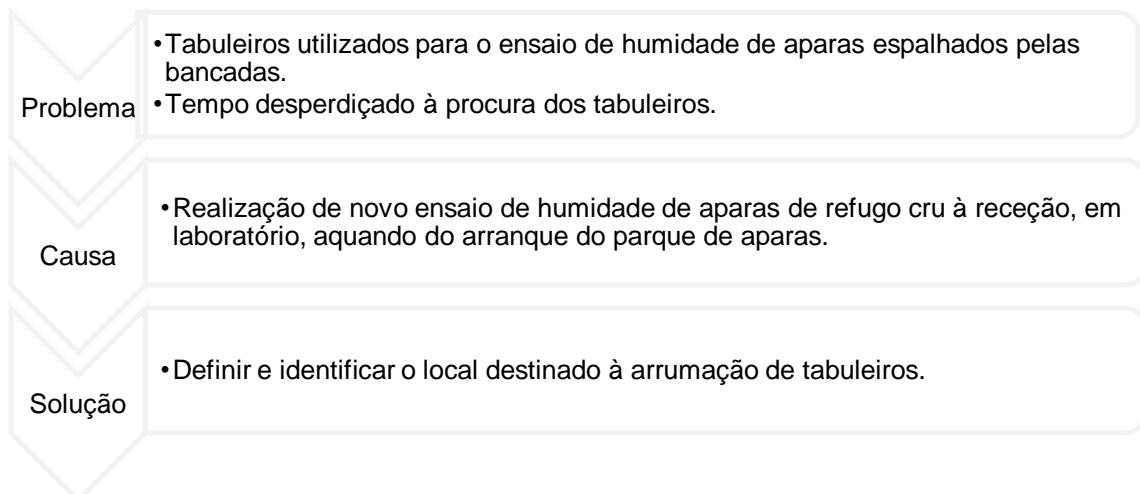




Figura 4-3 Arrumação de tabuleiros: antes e depois.

### 3. Arrumação e triagem de garrafas de clientes

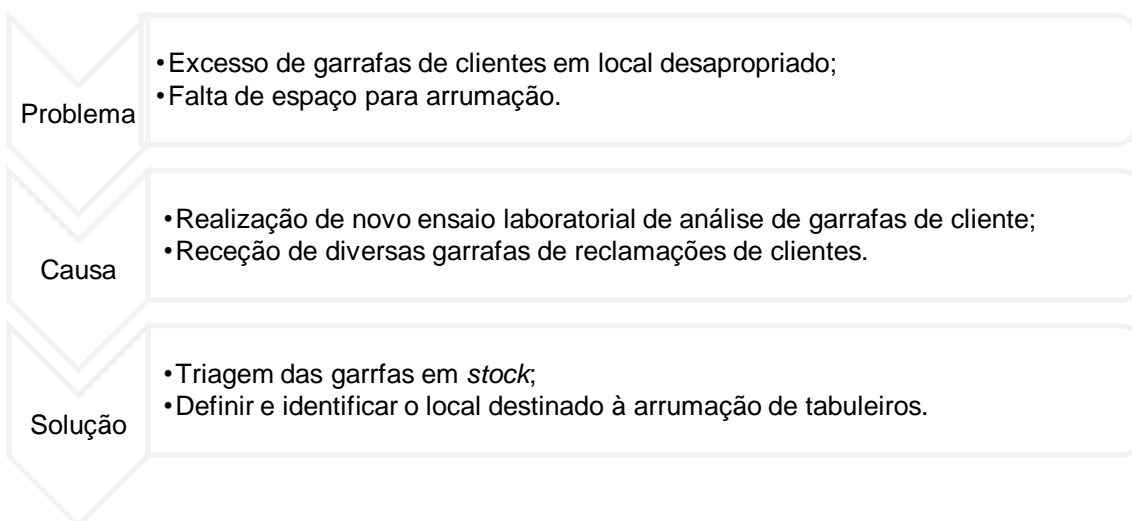


Figura 4-4 Arrumação e triagem de garrafas de clientes

#### 4. Arrumação do carrinho de transporte de amostras

Problema	<ul style="list-style-type: none"><li>• Carrinho que serve de transporte de amostras sem local específico de arrumação, encontrando-se muitas vezes perto da zona de escadas, aumentando assim o risco de acidente;</li></ul>
Causa	<ul style="list-style-type: none"><li>• Carrinho com diversos utilizadores, sendo estacionado em locais diferentes.</li></ul>
Solução	<ul style="list-style-type: none"><li>• Definir e identificar o local para estacionamento do carrinho.</li></ul>



*Figura 4-5 Arrumação de carrinho de transporte de amostras: antes e depois.*

#### 5. Identificação de amostras para determinação de TCA

Problema	<ul style="list-style-type: none"><li>• Dificuldade em identificar amostras relativamente ao tipo de produto, aquando da necessidade de gestão de prioridades;</li><li>• Tempo desperdiçado a procurar a identidade de cada amostra.</li></ul>
Causa	<ul style="list-style-type: none"><li>• Amostras registadas em ficheiro e identificadas por número sequencial;</li><li>• Registo de amostras não pode ser feito seguido (ex. 1º aparas, 2º granulados, 3º rolhas...), tem que ser feito por ordem de receção das mesmas.</li></ul>
Solução	<ul style="list-style-type: none"><li>• Identificar amostras por tipo de produto;</li><li>• Separação das amostras, após pipetagem, em diferentes trays utilizando as identificações definidas.</li></ul>

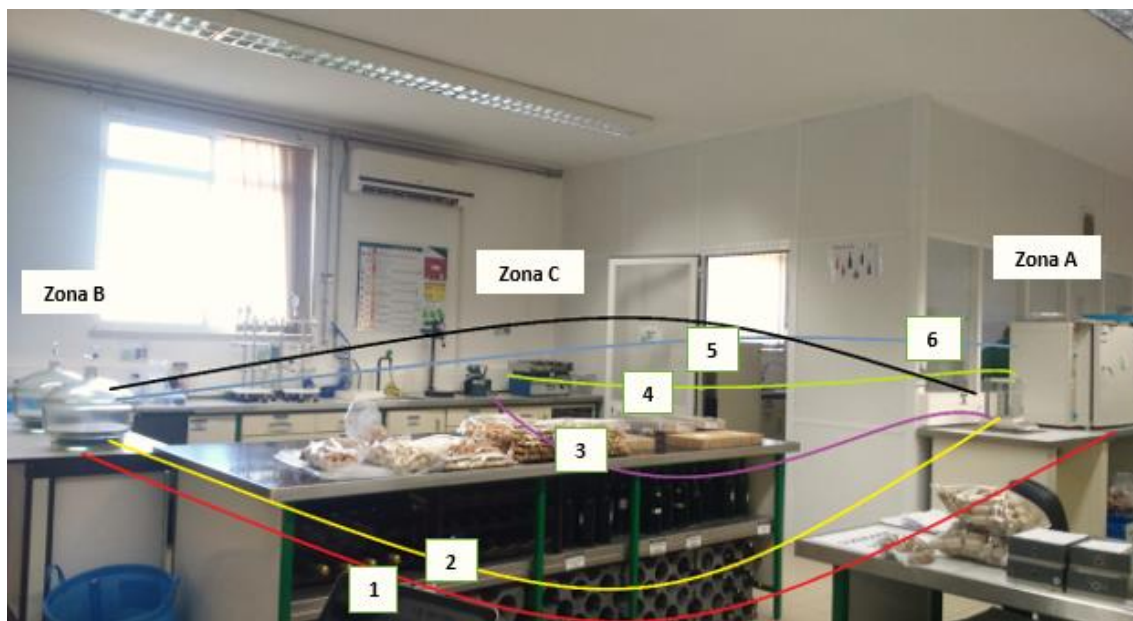


*Figura 4-6 Identificação de amostras para determinação de TCA: antes e depois.*

### 4.3 Diagrama de Spaghetti

O Diagrama de Spaghetti pode ser utilizado em conjunto com outras ferramentas e técnicas de lean manufacturing que ajudam a mapear o funcionamento de um determinado processo. Usando o diagrama, é possível identificar algumas das fontes de problemas e onde ocorre perda de tempo em alguma atividade. É também possível decidir sobre os próximos passos a tomar. Por exemplo, é possível utilizar o diagrama para fazer alterações no layout de um determinado espaço para uma melhoria da eficiência dos fluxos.

Na Figura 4-7 é possível visualizar o Diagrama de Spaghetti para o método de ensaio de Teor de Pó.



*Figura 4-7. Diagrama de Spaghetti: método de ensaio de Teor de Pó.*

A numeração de 1 a 6 na Figura 4-7 pretende identificar o seguimento dos passos do ensaio, cujo procedimento se encontra em detalhe no capítulo 5.2.2. A duração total do ensaio é de aproximadamente 4 horas e 30 minutos.

Com o objetivo de diminuir o tempo desperdiçado em deslocações de pessoas, seria de propor a redefinição do layout desta zona de realização de ensaios. Nomeadamente situar a Zona A mais próximo da B e C., ou seja, colocar as estufas numa zona mais próxima do local de agitação e filtração. Esta redefinição iria também contribuir para a diminuição do ruído associado às contaminações (poeira no ar) provenientes de maiores deslocações.

Para o método de ensaio de Teor de Peróxidos, o outro método de estudo desta dissertação não foi considerado relevante a elaboração do diagrama, uma vez que se trata de um ensaio com relativamente poucas deslocações, sendo tudo feito num curto espaço, não havendo desperdício de tempo com as mesmas.





## 5 . Validação dos métodos internos de ensaio: Teor de Pó e Teor de Peróxidos

No presente capítulo encontra-se descrito de forma detalhada o trabalho desenvolvido ao longo do projeto de investigação com objetivo da validação dos métodos de ensaio de determinação de Teor de Pó e Teor de Peróxidos presente em rolhas. Este trabalho teve o intuito de auxiliar o laboratório da UI-Equipar, na tarefa de demonstrar que um método nas condições em que é executado, tem as características necessárias para a obtenção de resultados com a qualidade exigida.

### 5.1 Fundamentos da validação do método

A validação de um método interno de ensaio é a confirmação através de apresentações de evidência objetiva, de que os requisitos específicos relativos a uma dada utilização pretendida são satisfeitos.

A Norma NP EN ISO/IEC 17025 (2005) define uma metodologia harmonizada, com validade para a acreditação de laboratórios em Portugal, na Europa e internacionalmente.

Os requisitos mínimos para a validação dependem do tipo de método em causa, e compreendem o estudo dos parâmetros seguintes:

- Gama de trabalho;
- Limiares Analíticos do Método de ensaio: Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ);
- Precisão;
- Repetibilidade;
- Reprodutibilidade;
- Precisão Intermédia;
- Robustez.

#### 5.1.1 Gama de trabalho

Para qualquer método quantitativo, existe uma faixa de concentrações do analito ou valores da propriedade no qual o método pode ser aplicado.

No limite inferior da faixa de concentração, os fatores limitantes são os valores dos limites de detecção e de quantificação. No limite superior, os fatores limitantes dependem do sistema de resposta do equipamento de medição.

#### 5.1.2 Limiares Analíticos do método de ensaio: Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Os limiares analíticos são determinados a partir do regulamento do IPAC (OGC002). O **limite de detecção (LD)** corresponde à mais pequena quantidade de substância a analisar e que pode ser detetada numa amostra, mas não necessariamente quantificada como um valor exato. Em termos qualitativos, este conceito, corresponde à concentração mínima que é possível distinguir

do branco, ou seja, de uma amostra que contém a mesma matriz, mas está isenta de analito. O **limite de quantificação (LQ)** corresponde à concentração a partir da qual é possível quantificar o analito, sendo o valor determinado exato e preciso.

Em termos quantitativos os limites, o LD e o LQ são obtidos por:

$$LD = X_0 + K \cdot \sigma_0 \quad \text{Equação 1}$$

$$LQ = X_0 + 10 \cdot \sigma_0 \quad \text{Equação 2}$$

sendo:

$X_0$  – media aritmética do teor medido de uma série de brancos (entre 10 e 20 ensaios), preparados de forma independente e lidos ao longo de vários dias de trabalho, isto é, reproduzindo o mais possível a situação de rotina.

$\sigma_0$  – representa o desvio padrão associado a  $X_0$ .

Se a lei da probabilidade de  $X_0$  é suficientemente conhecida e partindo do princípio que é gaussiana (distribuição normal de erros) então torna-se o valor de  $K \approx 3.3$  para um nível de confiança de cerca de 99.7%. (Guia Relacre 13, 2000)

### 5.1.3 Precisão

A precisão é determinada pela Norma ISO 5725-1 e avalia a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos sobre uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições bem definidas. Existem três parâmetros que definem a precisão: repetibilidade, reprodutibilidade e precisão intermédia.

#### 5.1.3.1 Repetibilidade

A repetibilidade exprime a precisão de um método de ensaio efetuado em condições idênticas, isto é, refere-se a ensaios efetuados sobre a mesma amostra, em condições tão estáveis quanto possível, tais como: mesmo analista, mesmo laboratório, mesmo equipamento.

Este parâmetro pode ser determinado através de um ensaio interlaboratorial ou a partir de ensaios efetuados no próprio laboratório.

Segundo o Guia Relacre 13 (2010) um método será repetível se a diferença absoluta entre dois resultados de ensaio ( $X_i, X_{i-1}$ ), obtidos nas condições acima referidas, não for superior ao limite de repetibilidade ( $r$ ), para uma probabilidade específica.

Para se determinar a repetibilidade de um método no próprio laboratório efetuam-se uma série de medições ( $n \geq 10$ ) sobre uma mesma amostra ou padrões, em condições de repetibilidade.

A estimativa da variação ( $Sr^2$ ) de um método de análise pode ser determinada pela média ponderada das estimativas de  $m$  séries de análises estudadas nas condições de repetibilidade e

é dada por:

$$S_{ri}^2 = \frac{\sum_{m=1}^p [(n_{mi} - 1) \times S_{mi}^2]}{\sum_{m=1}^p (n_{mi} - 1)}$$

*Equação 3*

sendo:

$S_{ri}^2$  – variância de repetibilidade associada aos resultados considerados;

$S_{mi}^2$  – variância associada aos resultados;

$(n_{mi} - 1)$  – graus de liberdade da série de análises;

$p$  – número de laboratórios participantes

Para um nível de confiança de 97.5% e 10 réplicas,  $t(9,97.5\%) = 2.2622$  o limite de repetibilidade ( $r$ ) é avaliado segundo:

$$r = t \cdot \sqrt{2} \cdot S_{ri} = 2.26 \cdot \sqrt{2} \cdot S_{ri}$$

*Equação 4*

sendo:

$S_{ri}$  – desvio padrão de repetibilidade associada aos resultados considerados;

O Coeficiente de Variação de Repetibilidade ( $CV_r$ ), é numericamente igual à razão do desvio padrão da repetibilidade e da média dos valores considerados (coeficiente apresentado em percentagem):

$$CV_r = \frac{S_{ri}}{\bar{x}} \times 100$$

*Equação 5*

### 5.1.3.2 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade refere-se à precisão de um método efetuado em condições de ensaio diferentes, utilizando o mesmo método de ensaio, sobre uma mesma amostra, fazendo-se variar as condições de medição, tais como: diferente laboratório, diferente operador e diferente equipamento.

Em ensaios interlaboratoriais, a mesma amostra é enviada para diferentes laboratórios onde é analisada. A aceitação ou rejeição é feita através do fator  $z$ -score onde:

$$z - \text{score} = \frac{|x_i - \bar{X}|}{S}$$

*Equação 6*

sendo:

$x_i$  – média de cada laboratório;  
 $X$  – valor “verdadeiro”;  
 $S$  – o desvio padrão dos resultados

O critério de aceitação ou de rejeição do resultado obtido depende do valor do z score:

- $|z| \leq 2$  o resultado é aceitável;
- $2 < |z| < 3$  o resultado é questionável;
- $|z| \geq 3$  o resultado é insatisfatório.

As duas medidas de dispersão referidas anteriormente representam os extremos da variabilidade de um método de ensaio, sendo a repetibilidade uma medida de variabilidade mínima e a reprodutibilidade uma medida de variabilidade máxima dos resultados. Entre estas medidas extremas existe uma situação intermédia, que se designa por precisão intermédia (Ribeiro, 2008).

### 5.1.3.3 Precisão intermédia

A precisão intermédia avalia a precisão de um método de ensaio quando aplicado no mesmo laboratório, mas definindo exatamente quais as condições a variar (uma ou mais), tais como: analistas, equipamento, tempo, etc. Esta medida da precisão é reconhecida como sendo a mais representativa da variabilidade do método.

A determinação da precisão intermédia é feita através de um método simplificado e baseia-se na execução de  $n$  medições ( $n \geq 10$ ), em condições pré-definidas, sobre a mesma amostra ou padrões. Por outro lado, o desvio padrão da precisão intermédia,  $S_{pi}$  é determinado pela seguinte expressão:

$$S_{pi} = \sqrt{\frac{1}{t(n-1)} \sum_{j=1}^t \sum_{k=1}^n (y_{jk} - \bar{y}_j)^2}$$

Equação 7

Sendo:

$S_{pi}$  – desvio padrão de precisão intermédia;  
 $t$  – número de amostras ensaiadas;  
 $n$  – número de ensaios efetuados por amostra;  
 $j$  – número da amostra ( $1 \leq j \leq t$ );  
 $k$  – número do resultado obtido para a amostra  $j$  ( $1 \leq k \leq n$ );  
 $y_{jk}$  – resultado individual ( $k$ ) para a amostra  $j$  de 1 a  $t$ .

De forma análoga ao cálculo do limite de repetibilidade, para  $n=10$  e um nível de confiança de 97,5%, o limite de precisão intermédia ( $r_{pi}$ ) é calculado através de:

$$r_{pi} = 3.2 \times \sqrt{S_{pi}^2}$$

Equação 8

#### 5.1.4 Robustez

A robustez de um método de ensaio mede a sensibilidade que este apresenta face a pequenas, mas deliberadas variações dos seus parâmetros experimentais, fornecendo igualmente uma indicação da confiança do sistema durante o uso normal.

Um método diz-se robusto se se revelar praticamente insensível a pequenas variações que possam ocorrer quando este está a ser executado.

Para determinar a robustez do método, para cada variação de um parâmetro experimental, são realizados dois testes: *teste-F* e *teste-t*.

O *teste-F*, avalia a presença de diferenças significativas entre as variâncias de cada um dos testes envolvidos.

Posteriormente, dependendo da existência, ou não, de diferenças significativas entre as variâncias, é realizado o *teste-t* para variâncias desiguais ou para variâncias iguais. O *teste-t* verifica a existência de diferenças significativas entre os dois ensaios, seguindo conceitos estatísticos para rejeitar ou não uma hipótese nula.

Quanto maior for a robustez de um método, maior será a confiança desse relativamente à sua precisão.

### 5.2 Método de determinação de Teor de Pó

**Objetivo:** O presente método tem como finalidade fixar o processo para determinar o pó cedido por rolhas de cortiça, em contacto com água filtrada.

Aplica-se a rolhas de cortiça sujeitas a tratamento de superfície.

#### 5.2.1 Materiais e Reagentes

Para o processo de validação do método de determinação do Teor de Pó em rolhas de cortiça foram utilizados os seguintes materiais:

- Matraz de 500 ml;
- Proveta 200ml;
- Agitador regulado a uma frequência de rotação entre 140-160 r/min;
- Filtro de membrana com poro de 1.2  $\mu\text{m}$ ;
- Sistema de filtração por vácuo;
- Placas de Petri;
- Estufa de secagem regulada para uma temperatura  $103^\circ \pm 5^\circ\text{C}$ ;
- Exsiccador;
- Balança analítica (Kern, Modelo 770-12)

#### Reagentes:

- Água filtrada.

### 5.2.2 Métodos

Para a realização dos ensaios de Teor de Pó foi recolhida uma amostra de rolhas do tipo Advantec, calibre 44 x 23.5 e que haviam sofrido tratamento com P2X.

Na Figura 5-1 pode observar-se a amostragem das rolhas em causa.



*Figura 5-1 Amostragem de rolhas utilizadas nos ensaios de Teor de Pó.*

#### **Procedimento:**

Este ensaio deve ser efetuado em duplicado, no entanto para este estudo cada ensaio correspondia a 10 réplicas.

1. Após a recolha da amostra, colocou-se 200 ml de água filtrada juntamente com 8 rolhas. (No caso de rolhas com calibres superiores usa-se no ensaio 100 ml de água filtrada e 3 rolhas);
2. De seguida colocou-se a agitar durante 30 minutos;
3. As placas de Petri foram taradas, previamente secas durante 1h na estufa a 100°C, juntamente com o filtro de membrana;
4. Filtrou-se a solução através do filtro de membrana, com auxílio de vácuo;
5. Após a filtração, colocou-se a membrana na caixa de Petri, com a ajuda de uma pinça;
6. Levou-se o conjunto (caixa de Petri + membrana + filtrado) à estufa durante 2h;
7. Por ultimo, deixou-se arrefecer no exsiccador durante 30 minutos e após esse período pesou-se, a caixa de Petri juntamente com a membrana, na balança analítica.

O resultado é calculado da seguinte forma:

$$\text{Teor de Pó (R)} = \frac{(P2 - P1) \times 1000}{n}$$

*Equação 9*

sendo:

P1 – peso da placa de Petri + filtro, em g;

P2 – P1+Pó, em g;

n – número de rolhas utilizadas no ensaio.

O resultado final é a media aritmética dos ensaios realizados e é expresso em mg/rolha, arredondado às décimas.

A Figura 5-2 ilustra um esquema representativo das etapas do método.

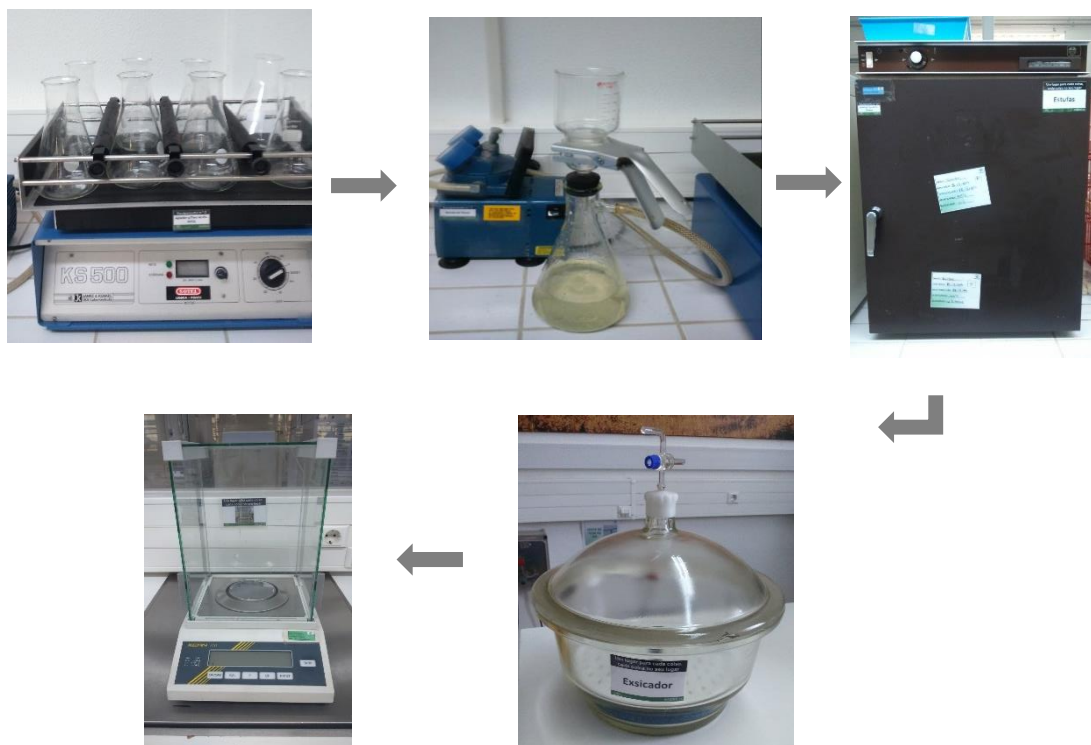


Figura 5-2. Esquema representativo das etapas do método de Teor de Pó.

### Método utilizando o equipamento “Hach Lange”

Para efeitos de comparação foi feito um ensaio de 10 réplicas utilizando o equipamento “Hach Lange” DR 1900 (Figura 5-3), trata-se de um espectrofotômetro que permite realizar diversos métodos de teste pré-programados, CQO, determinação de sólidos totais, entre os quais determinação de sólidos suspensos.



Figura 5-3 Equipamento Hach Lange DR 1900.

Neste estudo foi utilizada uma amostra de rolhas aglomerada de calibre 44 x 23,5, tratada com P2X.

### Procedimento:

1. Após a recolha da amostra, colocou-se 200 ml de água filtrada juntamente com 8 rolhas. (No caso de rolhas com calibres superiores usa-se no ensaio 100 ml de água filtrada e 3 rolhas);

2. De seguida colocou-se a agitar durante 30 minutos;
3. Retiraram-se as rolhas e colocou-se 100 ml da solução na célula do equipamento (anteriormente tinha sido colocada uma célula com água filtrada como branco);
4. Limpa-se o exterior da célula e efetua-se a respetiva leitura.

O resultado dado pelo equipamento é em mg/l.

### **5.2.3 Validação do método – Procedimentos**

Para a validação do método de determinação do Teor de Pó foram realizados estudos no que diz respeito à gama de trabalho, aos limiares analíticos, à precisão do método, através da repetibilidade, reprodutibilidade e precisão intermédia, à robustez, assim como estudos baseados em ensaios interlaboratoriais.

#### **Gama de trabalho**

A gama de trabalho do método está definida através de uma especificação, onde o valor de Teor de Pó não poderá exceder 3 mg/rolha, independentemente do tipo de rolha. Contudo, através da análise de dados históricos é possível verificar que os valores obtidos se encontram muito abaixo deste valor definido. Foi assim elaborado um estudo com o intuito de aferir esses resultados e definir novas especificações consoante o tipo de rolha.

#### **Limiares Analíticos do método de ensaio: LD e LQ**

Para o estudo dos Limiares Analíticos recorreu-se ao ensaio de brancos, ou seja, foi feito o método na sua totalidade, mas sem a utilização de rolhas.

#### **Precisão**

A precisão do método foi avaliada através da repetibilidade, reprodutibilidade e da precisão intermédia.

#### **Robustez**

Para o estudo da robustez foram avaliados dois parâmetros: velocidade de agitação e o tipo de água utilizada.

## **5.3 Método de determinação de Teor de Peróxidos**

**Objetivo:** O presente método tem como finalidade fixar o processo para determinar o Teor de Peróxidos residual em rolhas de cortiça lavadas com produtos à base de peróxidos.

### **5.3.1 Materiais e Reagentes**

Para o processo de validação do método de determinação do Teor de Peróxidos em rolhas de cortiça foram utilizados os seguintes materiais:

- Medidor refletómetro RQFlex, com tiras de análise de peróxidos;
- Matraz de 500 ml;
- Proveta 100ml;
- Agitador regulado a uma frequência de rotação de 120 r/min.



**Reagentes:**

- Água filtrada.

**5.3.2 Métodos**

Para a realização dos ensaios de Teor de Peróxidos foram recolhidas amostras após a etapa do processo de fabrico Lavação, utilizando-se rolhas não revestidas. Nomeadamente, foram recolhidas amostras diariamente à mesma hora, assim como armazenadas nas mesmas condições (saco fechado). Os ensaios foram realizados ao longo do dia, para que a quantidade de peróxidos libertada durante esse período fosse consideravelmente a mesma. Foram recolhidas amostras com calibres diferentes, no entanto todas provenientes da máquina de lavação 2, correspondendo a lavações do tipo CL2000.

Na Figura 5-4 pode observar-se a amostragem das rolhas em causa.



*Figura 5-4 Amostragem de rolhas utilizadas nos ensaios de Teor de Peróxidos.*

**Procedimento:**

Este ensaio deve ser efetuado em duplicado, no entanto para este estudo cada ensaio correspondia a 10 réplicas.

1. Após a recolha da amostra colocaram-se 3 rolhas numa matraz e adicionaram-se 100 ml de água filtrada;
2. De seguida, colocou-se a agitar durante 1 hora;
3. Após o período de agitação, determinou-se a quantidade de peróxidos com ajuda do refletómetro. Mergulhou-se a tira na solução e inseriu-se no equipamento para efetuar a leitura.

O resultado é calculado da seguinte forma:

$$\text{Teor de Peróxidos} = \frac{L \times 0.1}{n}$$

*Equação 10*

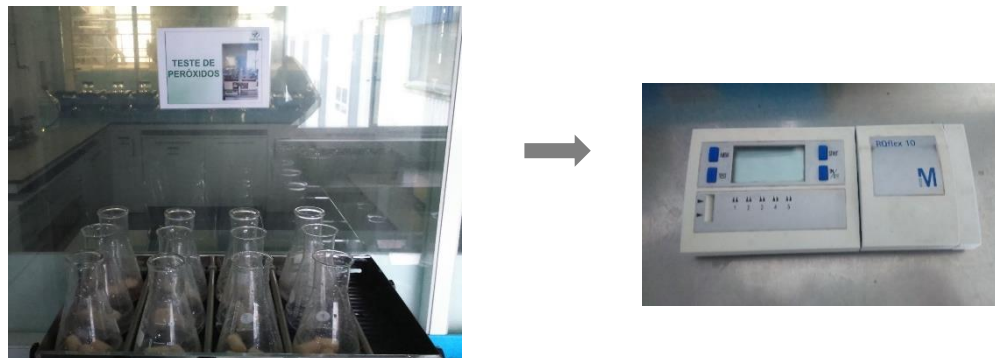
sendo:

L – o Teor de Peróxidos do extrato, em mg/litro;

n – número de rolhas por matraz.

O resultado final é a média aritmética dos ensaios realizados e é expresso em mg/rolha, arredondado às décimas.

A Figura 5-5 ilustra um esquema representativo das etapas do método.



*Figura 5-5. Esquema representativo das etapas do método de Teor de Peróxidos.*

### **5.3.3 Validação do método - Procedimentos**

Para a validação do método de determinação do Teor de Peróxidos foram igualmente realizados estudos no que diz respeito à gama de trabalho, aos limiares analíticos, à precisão do método, através da repetibilidade, reprodutibilidade e precisão intermédia, à robustez, assim como estudos baseados em ensaios interlaboratoriais.

#### **Gama de trabalho**

A gama de trabalho deste método encontra-se definida através da faixa de medição do refletómetro RQFlex.

#### **Limiares Analíticos do método de ensaio: LD e LQ**

Para o estudo dos Limiares Analíticos recorreu-se ao ensaio de brancos, ou seja, foi feito o método na sua totalidade, mas sem a utilização de rolhas.

#### **Precisão**

A precisão do método foi avaliada através da repetibilidade, reprodutibilidade e da precisão intermédia.

#### **Robustez**

Para o estudo da robustez foram avaliados dois parâmetros: velocidade de agitação e o tipo de água utilizada no ensaio.

## 6 .Resultados e Discussão

A validação desta metodologia consistiu na realização de estudos de forma a avaliar os seguintes parâmetros: gama de trabalho, limiares analíticos, precisão e robustez. Nos anexos encontram-se apresentados todos os resultados experimentais que foram utilizados para os estudos de validação dos métodos.

### 6.1 Teor de Pó

#### 6.1.1 Gama de trabalho

A gama de trabalho deste método encontra-se definida através do seu limite de especificação, ou seja, a gama de trabalho são os valores que se encontram abaixo desse limite de 3 mg/rolha.

#### 6.1.2 Limiares Analíticos

Os limiares analíticos, segundo o guia (Relacre 13, 2000), são calculados através das Equações 1 e 2, respetivamente, presentes no subcapítulo 5.1.2 Limiares Analíticos do método de ensaio. Os resultados encontram-se na Tabela 3:

Tabela 3. Resultados Limiares Analíticos do método Teor de Pó: LD e LQ.

$X_0$	$\sigma_0$	K	Limite de Detecção (mg/rolha)	Limite Quantificação (mg/rolha)
0,1	0,1	3,3	0,4	1,1

Analisando os resultados obtidos, a mais pequena concentração de analito que pode ser detetada numa amostra, para este método especificamente é de 0,4 mg/rolha, mas a quantificação da concentração deste composto nessa amostra, com um valor exato, só poderá ser efetuada a partir de 1,1 mg/rolha.

Uma leitura inferior a 0,4 mg/rolha não significa obviamente, a ausência de pó na amostra, apenas podendo afirmar-se que - com uma probabilidade de 97,5 % - a concentração deste na amostra será inferior aos 0,4 mg/rolha determinados como limite de deteção.

Estes resultados não coadunam com os dados históricos como pode ser constatado pela Figura 6-1, onde estão representados os valores médios de Teor de Pó por tipo de rolha.

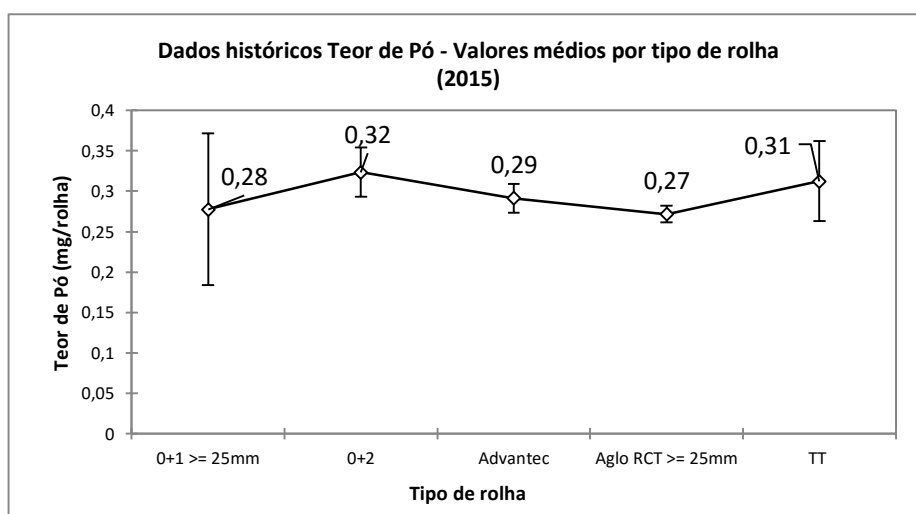


Figura 6-1. Dados históricos Teor de Pó (UI-Equipar, 2015)

### 6.1.2.1 Diagrama Ishikawa

Os valores históricos encontram-se abaixo do Limite de Detecção e Quantificação, evidenciando-se interferências na linha de base dos brancos. Com o objetivo de aferir as causas desse ruído, foi elaborado um diagrama Ishikawa (Figura 6-2).

O diagrama de causa-efeito ou diagrama de Ishikawa foi criado pelo professor Ishikawa (1986). É uma ferramenta que permite estruturar as causas de um determinado problema ou oportunidade de melhoria. Como se pode perceber pela observação da Figura 6-2 no eixo horizontal está o problema ou oportunidade de melhoria e na diagonal a esse eixo estão as causas desse problema. Estas causas podem ser agrupadas segundo os 6M: materiais, equipamentos, pessoas, métodos, ambiente e medidas ou segundo as categorias que o utilizador da ferramenta entender como mais adequadas para o problema em estudo.

Este diagrama faz parte das sete ferramentas clássicas da qualidade (Fluxograma, Histograma, Folhas de verificação, Análise ABC, gráfico de tendência e gráfico de dispersão) (Pinto, 2009).

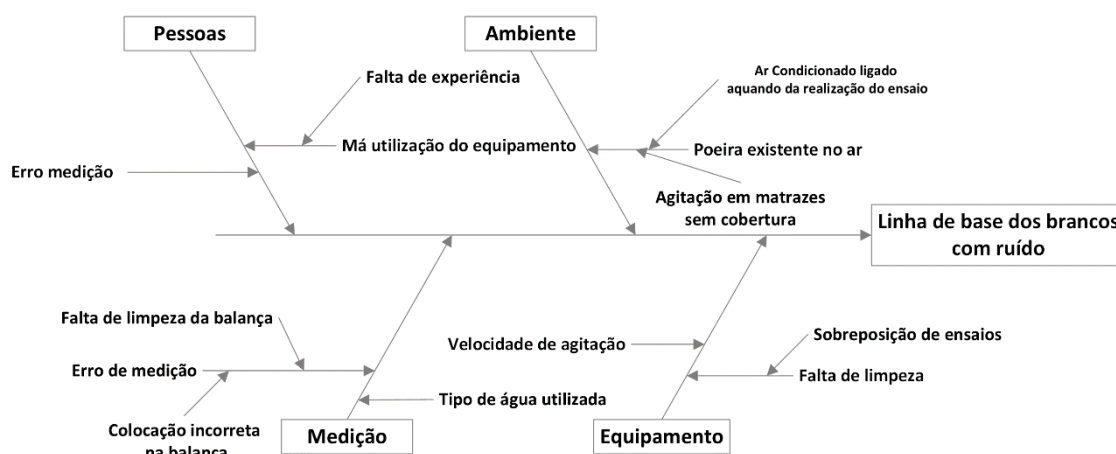


Figura 6-2. Diagrama Ishikawa: Linha de base dos brancos com ruído

Após a constatação de existência de diversas causas que provocam ruído, será de propor uma alteração ao método, nomeadamente colmatar a falta de limpeza dos equipamentos; criar um plano de ensaios para que não ocorra sobreposição de ensaios que recorrem ao uso dos mesmos equipamentos e ainda instruir e capacitar os analistas sobre o adequado modo de funcionamento dos diversos aparelhos de medição.

A atualização dos valores dos limiares analíticos deverá ser efetuada sempre que ocorram alterações de fatores de influência, tais como, o analista, os reagentes, o equipamento, entre outros.

### 6.1.3 Precisão

Na avaliação da precisão do método através da repetibilidade foram avaliados 10 replicados num curto espaço de tempo e em condições tão estáveis quanto possível (mesmo analista, mesmo equipamento).

Esta avaliação foi feita consoante o teste de:

- Repetibilidade – Exprime a precisão do método, em que as condições sob as quais o ensaio é realizado são tão estáveis quanto possíveis – mesmo laboratório, mesmo equipamento, mesmo analista, mesmos reagentes, e em curtos espaços de tempo;
- Reprodutibilidade – Refere-se à precisão do método onde os ensaios são realizados sob diferentes condições – diferente laboratório, diferente analista, diferente equipamento e/ou diferentes tempos;
- Precisão Intermédia – É um processo de avaliação da precisão do método, entre a repetibilidade e a reprodutibilidade, onde são definidas exatamente quais as condições a variar, uma ou mais, como por exemplo diferentes analistas, diferentes equipamentos e/ou diferentes épocas. (Relacre 13, 2000)

### 6.1.3.1 Repetibilidade

Na Tabela 4 encontram-se representados os resultados obtidos nos ensaios de precisão sob condições de repetibilidade, bem como os valores de limite de repetibilidade e o coeficiente de variação.

*Tabela 4. Valores de Teor de Pó obtidos nos ensaios de repetibilidade, valor de limite de repetibilidade e coeficiente de variação.*

n	Teor de Pó (mg/rolha)	$ X_i - X_{i-1} $
1	0,19	-
2	0,19	0,00
3	0,22	0,04
4	0,11	0,11
5	0,15	0,04
6	0,14	0,01
7	0,14	0,00
8	0,24	0,10
9	0,09	0,15
10	0,14	0,05
<b>S<sub>r</sub></b>	0,05	
<b>CV</b>	28,6%	
<b>r<sub>r</sub></b>	0,15	

Segundo o Guia Relacre 13 (2010), um determinado método de ensaio apresenta boa repetibilidade quando a diferença absoluta entre dois ensaios consecutivos não ultrapassa o limite de repetibilidade.

Do desvio padrão ( $S_r$ ) dos resultados dos ensaios realizados em condições de repetibilidade, calcula-se o limite de repetibilidade ( $r_r$ ) a partir da Equação 4 enunciada anteriormente no capítulo 5.1.3.1.

É possível verificar que em nenhuma medição do ensaio a diferença  $|X_i - X_{i-1}|$  ultrapassa o limite de repetibilidade, com nível de confiança 97.5%.

Uma outra forma de avaliar a precisão baseada nos dados de repetibilidade é através do coeficiente de variação (CV), calculado a partir da Equação 5. No entanto, este valor apresenta-

se muito alto, devido à diferença verificada entre os valores das medições, associado ao ruído existente neste método.

Tendo em conta os resultados obtidos, pode-se afirmar que o método apresenta bons resultados em termos de precisão, quando se analisa o limite de repetibilidade, contudo, apresenta um coeficiente de variação que nos remete para uma baixa precisão do método em termos de repetibilidade.

### 6.1.3.2 Reprodutibilidade

Segundo a norma ISO 5725-2, a reprodutibilidade do método é estudada através de ensaios interlaboratoriais. Para este estudo foi enviada uma amostra das rolhas em causa para o laboratório da Amorim Distribuição. Foram realizados 10 ensaios e posteriormente calculado o valor de z-score do laboratório. Segundo a norma do teste - ISO 5725-2 – este resultado permite uma avaliação da reprodutibilidade do laboratório, baseando-se no valor de z-score obtido.

Os resultados encontram-se na Tabela 5.

*Tabela 5. Resultados do ensaio interlaboratorial de Teor de Pó e respetivo z-score.*

<b>n</b>	<b>Teor de Pó (mg/rolha)</b>	
	<b><math>\bar{X}</math></b>	<b>z-score</b>
1	0,15	2,00
2	0,10	0,50
3	0,13	1,00
4	0,10	0,50
5	0,13	1,00
6	0,10	0,50
7	0,10	0,50
8	0,12	0,50
9	0,10	0,50
10	0,12	0,50
<b>S</b>	0,02	
<b><math>\bar{x}_i</math></b>	0,11	

Onde,

$\bar{x}_i$  – média dos resultados do laboratório;

$\bar{X}$  – valor “verdadeiro”;

S – o desvio padrão dos resultados

O critério de aceitação é de z-score  $\leq 2$ , que corresponde a um resultado satisfatório.

Os resultados obtidos nos dez testes são bastante positivos, apresentando um valor de z-score sempre inferior a 2, sendo que apenas no primeiro foi obtido um z-score=2.

É importante realçar também que este ensaio interlaboratorial apresenta diferenças significativas face aos ensaios realizados no Laboratório da UI-Equipar, uma vez que não foram garantidas as mesmas condições.

### 6.1.3.3 Precisão intermédia

No estudo da precisão intermédia foram consideradas as variáveis: operadores e dias diferentes. Nomeadamente, sobre uma mesma amostra 3 operadores distintos realizaram os ensaios com 10 réplicas, e em dias diferentes.

Na Tabela 6 estão representados os valores obtidos no teste da precisão intermédia, bem como os valores do desvio padrão ( $S_{pi}$ ) e de limite de precisão intermédia ( $r_{pi}$ ).

*Tabela 6. Resultados do teste de precisão do método Teor de Pó obtidos sob condições de precisão intermédia, desvio padrão ( $S_{pi}$ ) e limite de precisão intermédia ( $r_{pi}$ ).*

	n	Teor de Pó (mg/rolha)	$ X_i - X_{i-1} $
<b>Operador 1 (11 janeiro)</b>	1	2,65	-
	2	1,91	0,74
	3	0,51	1,40
	4	0,21	0,30
	5	1,00	0,79
	6	0,12	0,87
	7	0,19	0,06
	8	0,05	0,14
	9	0,18	0,13
	10	0,21	0,04
<b>Operador 2 (12 janeiro)</b>	1	0,36	0,15
	2	0,38	0,01
	3	0,40	0,03
	4	0,25	0,15
	5	0,39	0,14
	6	0,44	0,05
	7	0,35	0,09
	8	0,40	0,05
	9	0,44	0,04
	10	0,30	0,14
<b>Operador 3 (13 janeiro)</b>	1	0,40	0,10
	2	0,30	0,10
	3	0,32	0,02
	4	0,14	0,19
	5	0,09	0,05
	6	0,14	0,05
	7	0,09	0,05
	8	0,21	0,12
	9	0,16	0,05
	10	0,10	0,06
<b><math>S_{pi}</math></b>	0,54		
<b><math>r_{pi}</math></b>	1,55		

Verifica-se que o método de Teor de Pó apresenta bons resultados em termos de precisão intermédia para a amostra, com uma confiança de 97,5%. As diferenças absolutas,  $|X_i - X_{i-1}|$ , entre dois resultados de ensaio realizados em condições de precisão intermédia (referidas no subcapítulo 5.2.3 Precisão intermédia) são sempre inferiores ao limite de precisão intermédia ( $r_{pi}$ ) calculado.

#### 6.1.4 Robustez

Para o estudo da robustez foram avaliados dois parâmetros:

- Tipo de água utilizada;
- Velocidade de agitação.

Foram então realizados os ensaios, seguindo o modo de preparação do método, e posteriormente com as alterações ao método já enunciadas. Os resultados de cada um dos ensaios em função do parâmetro a variar encontram-se na Tabela 7 e Tabela 8.

*Tabela 7. Resultados dos ensaios do teste de robustez ao método Teor de Pó considerando o parâmetro: tipo de água utilizada.*

	Água filtrada (método usual)	Água corrente
<b>n</b>	<b>Teor de Pó (mg/rolha)</b>	
1	0,30	0,45
2	0,29	0,81
3	0,24	0,74
4	0,23	0,32
5	0,08	0,50
6	0,51	0,35
7	0,39	0,40
8	0,24	0,35
9	0,22	0,48
10	0,31	0,64
<b>Média</b>	0,28	0,32
<b>S<sup>2</sup></b>	0,11	0,17

*Tabela 8. Resultados dos ensaios do teste de robustez ao método considerando o parâmetro: velocidade de agitação.*

	Velocidade agitação 150 r/min	Velocidade agitação 50 r/min
<b>n</b>	<b>Teor de Pó (mg/rolha)</b>	
1	0,14	0,09
2	0,28	0,10
3	0,18	0,09
4	0,16	0,08
5	0,10	0,14
6	0,25	0,34
7	0,39	0,11
8	0,29	0,05
9	0,24	0,23
10	0,15	0,21
<b>Média</b>	0,22	0,14
<b>S<sup>2</sup></b>	0,08	0,08



Onde,

$S^2$  - variância da amostra.

Procedeu-se então à realização do *teste-F* para cada ensaio, com o intuito de avaliar a existência de diferenças significativas entre as variâncias. Dependendo do resultado do *teste-F*, foi realizado o *teste-t* para variâncias iguais ou desiguais, para o mesmo par de ensaios.

O teste de hipóteses do *teste-t* bilateral será:

**Hipótese nula**  $H_0$ :  $S_1^2 = S_2^2$

**Hipótese alternativa**  $H_1$ :  $S_1^2 \neq S_2^2$

Rejeita-se a hipótese nula caso  $t_{calc} > t_{crítico}$ .

Os testes foram realizados com recurso à ferramenta de análise de dados do software Excel.

Os resultados do *teste-F* e *teste-t* encontram-se na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados dos ensaios do teste da robustez do método Teor de Pó.

Ensaio	Teste-F			Teste-t			Robustez
Tipo de água	F	2,20	Iguais	t <sub>calculado</sub>	3,44	t <sub>calculado</sub> >t <sub>crítico</sub>	Não robusto
	F crítico	3,18		t <sub>crítico</sub>	2,10		
Velocidade agitação	F	1,05	Iguais	t <sub>calculado</sub>	-1,87	t <sub>calculado</sub> <t <sub>crítico</sub>	Robusto
	F crítico	3,18		t <sub>crítico</sub>	2,10		

Dos resultados obtidos é possível observar que o método é robusto para as variações de velocidade de agitação (150-50 r/min). Para o ensaio onde houve alteração do tipo de água (água corrente) o método não se apresentou robusto.

### 6.1.5 Método “Hach Lange”

Foi feito um estudo utilizando um outro método de determinação do Teor de Pó com o auxílio do equipamento “Hach Lange”. Este equipamento possui um software que permite realizar o teste de determinação de sólidos suspensos. Os resultados para este teste, assim como os resultados utilizando o método usual, considerando a mesma amostra, encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10. Resultados ensaio Teor de Pó; “Hach Lange” vs método usual.

n	“Hach Lange” (mg/rolha)	Método usual (mg/rolha)
1	3,13	0,31
2	6,00	0,39
3	3,25	0,50
4	2,25	0,35
5	2,13	0,39
6	2,13	0,30
7	5,38	0,24
8	1,50	0,50
9	3,75	0,40
10	3,88	0,34
<b>Média</b>	3,34	0,37
<b>S<sup>2</sup></b>	1,39	0,08

Onde,

$S^2$  - variância da amostra.

É possível verificar que os resultados obtidos com recurso ao equipamento "Hach Lange" são superiores, isto deve-se ao fato de ser um método que permite ler numa gama mais elevada que no método usual, onde apenas partículas inferiores a 1.2  $\mu\text{m}$  (dimensão do poro) conseguem "passar" pela membrana.

### 6.1.6 Definição de nova especificação

Foi elaborado um tratamento estatístico dos dados históricos através da análise de variância (ANOVA) com o objetivo de comparar os valores de Teor de Pó das diferentes rolhas. Visou-se averiguar a existência de significância estatística entre as variáveis Advantec, AgloRCT ( $\geq 25$  mm), TT, 0+1 e rolha 0+2. Recorreu-se à análise através do teste de Fisher com um intervalo de confiança de 95%.

Esta análise estatística foi realizada com o auxílio da ferramenta informática Microsoft Office Excel – XLSTAT - Statistical Software.

Através da tabela ANOVA (Tabela 11) é possível a determinação do valor do teste de F e a partir deste a validação da aplicabilidade do modelo, com um valor muito menor que o nível de significância.

Tabela 11. Análise de variância (ANOVA) para os diferentes tipos de rolha.

Fonte	Graus de Liberdade	Soma dos quadrados	Média dos quadrados	F	Pr > F
Modelo	4	0,277	0,069	3,370	<b>0,009</b>
Erro	1109	22,814	0,021		
Total corrigido	1113	23,092			

Efetuando a comparação entre cada um dos tipos de rolha (Tabela 12), é possível concluir que apenas existem diferenças significativas entre as rolhas AgloRCT e 0+2.

Tabela 12. Análise das diferenças entre os tipos de rolha segundo o método de Fisher, com um intervalo de confiança de 95%.

Contraste	Diferença	Diferença padronizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
Aglo RCT $\geq 25$ mm vs 0+2	-0,052	-3,158	1,962	<b>0,002</b>	Sim
Aglo RCT $\geq 25$ mm vs TT	-0,041	-1,578	1,962	0,115	Não
Aglo RCT $\geq 25$ mm vs Advantec	-0,020	-1,894	1,962	0,059	Não
Aglo RCT $\geq 25$ mm vs 0+1 $\geq 25$ mm	-0,006	-0,128	1,962	0,898	Não
0+1 $\geq 25$ mm vs 0+2	-0,046	-0,910	1,962	0,363	Não
0+1 $\geq 25$ mm vs TT	-0,035	-0,642	1,962	0,521	Não
0+1 $\geq 25$ mm vs Advantec	-0,014	-0,279	1,962	0,780	Não
Advantec vs 0+2	-0,032	-1,790	1,962	0,074	Não
Advantec vs TT	-0,021	-0,785	1,962	0,432	Não
TT vs 0+2	-0,011	-0,371	1,962	0,711	Não
LSD-valor:			0,027		

Esta ferramenta do Excel permitiu ainda agrupar os tipos de rolha em termos estatísticos, como demonstrado na Tabela 13.

Categoria	Médias LS	Erro padrão	Limite inferior (95%)	Limite superior (95%)	Grupos	
Aglo RCT >= 25mm	0,272	0,005	0,261	0,282	A	
0+1 >= 25mm	0,278	0,048	0,184	0,372	A	B
Advantec	0,291	0,009	0,274	0,309	A	B
TT	0,313	0,025	0,263	0,362	A	B
0+2	0,324	0,016	0,293	0,354		B

Tendo em conta a agrupagem anterior e considerando como A, o grupo de tipos de rolha onde os valores de Teor de Pó se encontram mais críticos (Figura 6-1) e B os restantes, foram então calculados novos limites de especificação para cada grupo, através da equação:

$$C_{pk} = \frac{LSE - \bar{x}}{3\sigma}$$

Equação 11

Considerando o processo como capaz:  $C_p \geq 1,33$  (Requeijo, 2008), os novos limites seriam:

*Tabela 13. Limites superiores de especificação para cada grupo de rolhas.*

LSE <sub>A</sub> =	0,90
LSE <sub>B</sub> =	1,03

A= Aglo RCT ≥ 25 mm; 0+1 ≥ 25mm, Advantec.  
B= TT ;0+2.

Estes novos limites encontram-se abaixo da especificação atual, no entanto é de considerar que se encontram muito acima do valor de limite de deteção, 0.4 mg/rolha. Tendo em conta que estes dois valores estão relativamente próximos poderia definir-se apenas uma especificação situando-se nos 1.1 mg/rolha, por exemplo.

## 6.2 Teor de Peróxidos

### 6.2.1 Gama de trabalho

A gama de trabalho deste método encontra-se definida através da faixa de medição do refletómetro RQFlex, que permite uma leitura de 0.2-20.0 mg/l H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A especificação atual deste método encontra-se nos 0.1 mg/rolha, correspondendo a 3 mg/l H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### 6.2.2 Limiares analíticos

Os limiares analíticos para este método são obtidos baseados na gama de trabalho, sendo que a concentração mínima que é possível distinguir do branco, ou seja, de uma amostra que contém a mesma matriz, mas não contém o analito, será o limite inferior da gama que o aparelho permite ler, 0,2 mg/l H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Não querendo dizer que não exista vestígios de peróxidos a baixo desta gama, só que o aparelho não permitirá fazer a sua leitura.

### 6.2.3 Precisão

Na avaliação da precisão do método através da repetibilidade foram avaliados 10 replicados num curto espaço de tempo e em condições tão estáveis quanto possível (mesmo analista, mesmo equipamento). Tal como para o método anterior esta avaliação foi feita realizando testes de repetibilidade, reprodutibilidade e precisão intermédia.

#### 6.2.3.1 Repetibilidade

Na Tabela 15 encontram-se representados os resultados obtidos nos ensaios de precisão sob condições de repetibilidade, bem como os valores de limite de repetibilidade e o coeficiente de variação.

*Tabela 14. Valores de Teor de Peróxidos obtidos nos ensaios de repetibilidade, valor de limite de repetibilidade e coeficiente de variação.*

n	Teor de Peróxidos (mg/rolha)	$ X_i - X_{i-1} $
1	0,28	-
2	0,28	0,00
3	0,22	0,05
4	0,33	0,11
5	0,28	0,05
6	0,29	0,01
7	0,27	0,02
8	0,32	0,05
9	0,31	0,01
10	0,32	0,01
<b>S<sub>r</sub></b>	0,03	
<b>CV</b>	10%	
<b>r<sub>r</sub></b>	0,10	

Um determinado método de ensaio apresenta boa repetibilidade quando a diferença absoluta entre dois ensaios consecutivos não ultrapassa o limite de repetibilidade. É possível verificar que apenas numa medição do ensaio a diferença  $|X_i - X_{i-1}|$  ultrapassa o limite de repetibilidade, com nível de confiança 97.5%.

O coeficiente de variação (CV) apresenta o valor de 10%, sendo considerado um valor baixo.

Assim, tendo em conta os resultados obtidos, pode-se afirmar que o método apresenta bons resultados em termos de precisão, quando os ensaios são realizados sob condições de repetibilidade.

### 6.2.3.2 Reprodutibilidade

Para este estudo foi tido em conta um ensaio interlaboratorial, na qual foi enviada uma amostra das rolhas em causa para o laboratório da Amorim Distribuição. Foram realizados 10 ensaios e posteriormente calculado o valor de z-score do laboratório.

Este resultado permite uma avaliação da reprodutibilidade do laboratório, baseando-se no valor de z-score obtido.

Os resultados encontram-se na Tabela 16.

*Tabela 15. Resultados do ensaio interlaboratorial de Teor de Peróxidos e respetivo z-score.*

	<b>Teor de Peróxidos (mg/rolha)</b>	
<b>n</b>	<b><math>\bar{X}</math></b>	<b><i>z</i>-score</b>
1	0,8	0,95
2	0,5	2,23
3	0,7	0,11
4	0,7	0,11
5	0,7	0,11
6	0,7	0,11
7	0,9	2,01
8	0,7	0,11
9	0,7	0,11
10	0,7	0,11
<b><i>S</i></b>	0,09	
<b><i>x<sub>i</sub></i></b>	0,71	

Onde,

$\bar{x}_i$  – média dos resultados do laboratório;

$\bar{X}$  – valor “verdadeiro”;

$S$  – o desvio padrão dos resultados

O critério de aceitação é de  $z\text{-score} \leq 2$ , que corresponde a um resultado satisfatório.

Os resultados obtidos nos dez ensaios são bastante positivos, apresentando um valor de  $z\text{-score}$  sempre inferior a 2, sendo que apenas no segundo foi obtido um  $z\text{-score}=2,23$  menos satisfatório.

### 6.2.3.3 Precisão intermédia

No estudo da precisão intermédia foi considerada a variável: operadores diferentes.

Nomeadamente, sobre uma mesma amostra 3 operadores distintos realizaram os ensaios com 10 réplicas.

Na Tabela 6 estão representados os valores obtidos no teste da precisão intermédia, bem como os valores do desvio padrão ( $S_{pi}$ ) e de limite de precisão intermédia ( $r_{pi}$ ).

Tabela 16. Resultados do teste de precisão do método Teor de Peróxidos obtidos sob condições de precisão intermédia, desvio padrão ( $S_{pi}$ ) e limite de precisão intermédia ( $r_{pi}$ ).

	n	Teor de Pó (mg/rolha)	$ X_i - X_{i-1} $
<b>Operador 1</b>	1	0,10	-
	2	0,10	0,01
	3	0,08	0,02
	4	0,10	0,01
	5	0,11	0,02
	6	0,11	0,00
	7	0,12	0,01
	8	0,11	0,02
	9	0,12	0,02
	10	0,13	0,01
<b>Operador 2</b>	1	0,13	0,01
	2	0,12	0,00
	3	0,12	0,00
	4	0,09	0,03
	5	0,09	0,01
	6	0,11	0,03
	7	0,13	0,01
	8	0,10	0,03
	9	0,11	0,02
	10	0,11	0,00
<b>Operador 3</b>	1	0,15	0,04
	2	0,13	0,02
	3	0,12	0,01
	4	0,14	0,01
	5	0,15	0,01
	6	0,05	0,09
	7	0,16	0,11
	8	0,15	0,01
	9	0,13	0,02
	10	0,15	0,02
<b><math>S_{pi}</math></b>	0,02		
<b><math>r_{pi}</math></b>	0,07		

Verifica-se que o método de Teor de Peróxidos apresenta bons resultados em termos de precisão intermédia para a amostra, com uma confiança de 97,5%. As diferenças absolutas,  $|X_i - X_{i-1}|$ , entre dois resultados de ensaio realizados em condições de precisão intermédia (referidas no subcapítulo 5.2.3 Precisão Intermédia) são sempre inferiores ao limite de precisão intermédia ( $r_{pi}$ ) calculado, com exceção de duas medições.

### 6.2.4 Robustez

Para o estudo da robustez foram avaliados três parâmetros:

- Tipo de água utilizada;
- Velocidade de agitação.

Foram então realizados os ensaios, seguindo o modo de preparação do método, e posteriormente com as alterações ao método já enunciadas. Os resultados de cada um dos ensaios em função do parâmetro a variar encontram-se na Tabela 18 e Tabela 19.

*Tabela 17. Resultados dos ensaios do teste de robustez ao método de Teor de Peróxidos considerando o parâmetro: tipo de água utilizada.*

	Água filtrada (método usual)	Água corrente
n	Teor de Peróxidos (mg/rolha)	
1	0,14	0,22
2	0,16	0,21
3	0,14	0,16
4	0,14	0,19
5	0,17	0,19
6	0,15	0,21
7	0,16	0,17
8	0,18	0,19
9	0,15	0,18
10	0,14	0,16
<b>Média</b>	0,15	0,19
<b>S<sup>2</sup></b>	0,01	0,02

*Tabela 18. Resultados dos ensaios do teste de robustez ao método Teor de Peróxidos considerando o parâmetro: velocidade de agitação.*

	Velocidade agitação 150 U/min	Velocidade agitação 101 U/min
n	Teor de Pó (mg/rolha)	
1	0,11	0,07
2	0,10	0,08
3	0,10	0,07
4	0,10	0,09
5	0,11	0,12
6	0,11	0,10
7	0,11	0,10
8	0,10	0,08
9	0,12	0,09
10	0,09	0,10
<b>Média</b>	0,10	0,09
<b>S<sup>2</sup></b>	0,01	0,01

Onde,

$S^2$  - variância da amostra.

Procedeu-se então à realização do *teste-F* para cada ensaio, com o intuito de avaliar a existência de diferenças significativas entre as variâncias. Dependendo do resultado do *teste-F*, foi realizado o *teste-t* para variâncias iguais ou desiguais, para o mesmo par de ensaios.

O teste de hipóteses do *teste-t* bilateral será:

**Hipótese nula**  $H_0:$   $S_1^2 = S_2^2$

**Hipótese alternativa**  $H_1:$   $S_1^2 \neq S_2^2$

Rejeita-se a hipótese nula caso  $t_{calc} > t_{crítico}$ .

Os testes foram realizados com recurso à ferramenta de análise de dados do software Excel. Os resultados do *teste-F* e *teste-t* encontram-se na Tabela 20.

Tabela 19. Resultados dos ensaios do teste da robustez do método Teor de Peróxidos.

Ensaio	Teste-F			Teste-t			Robustez
Tipo de água	F	1,97	Iguais	t <sub>calculado</sub>	4,21	t <sub>calculado</sub> > t <sub>crítico</sub>	Não robusto
	F crítico	3,18		t <sub>crítico</sub>	2,10		
Velocidade agitação	F	0,34	Desiguais	t <sub>calculado</sub>	2,65	t <sub>calculado</sub> > t <sub>crítico</sub>	Não robusto
	F crítico	0,31		t <sub>crítico</sub>	2,15		

Dos resultados obtidos é possível observar que o método não é robusto para as variações de velocidade de agitação (150-101 U/min). Para o ensaio onde houve alteração do tipo de água (água corrente) o método também não se apresentou robusto.



## 7 . Conclusões

Atualmente as necessidades de mercado fazem cada vez mais com que a indústria corticeira tenha uma principal preocupação com a vertente de qualidade.

Verifica-se que a necessidade de garantir a certificação de um laboratório assim como a sua acreditação é de extrema importância. A análise e garantia de boas práticas em laboratório devem ser um foco diário.

Relativamente aos métodos analisados em laboratório constatou-se que muitos dos ensaios desenvolvidos não estão a ser feitos na sua totalidade com o seguimento de procedimentos previamente estabelecidos, adotados de Normas ISO concordantes e Normas Portuguesas.

Na validação do método de Teor de Pó verificou-se que:

- A especificação atual do método de 3 mg/rolha se encontra muito superior aos resultados obtidos, assim como aos valores estudados historicamente referentes ao ano transato. No entanto, tendo como base geral o cliente final, poder-se-á dizer que os resultados são bastante satisfatórios.
- Os limites de deteção e quantificação, calculados através do método do desvio padrão da amostra, apresentaram valores muito altos, correspondendo a  $LD = 0,4$  mg/rolha e  $LQ = 1,1$  mg/rolha. Estes valores demasiado elevados podem ser explicados com o fato de existir muito ruído na linha de base. A elaboração do diagrama de Ishikawa foi um passo importante uma vez que nos permite visualizar as principais possíveis causas para esse ruído. Essas causas são, na sua maioria associadas ao uso diário dos equipamentos acabando por existir uma menor limpeza, uma vez que existe pó em qualquer superfície.
- No estudo da precisão em condições de repetibilidade, o limite de repetibilidade nunca foi ultrapassado. Na avaliação da repetibilidade através do coeficiente de variação observou-se que este apresentou um valor muito alto de 28,6%. No estudo da precisão em condições de reprodutibilidade, os resultados são bastante positivos, apresentando sempre um valor de z-score inferior a 2, sendo que apenas no primeiro foi obtido um z-score=2. No estudo da precisão em condições de precisão intermédia, o limite de precisão nunca foi ultrapassado por nenhuma diferença absoluta entre dois ensaios realizados. Deste modo conclui-se que o método, nas condições sob as quais os ensaios foram realizados, se apresenta preciso.
- No primeiro teste para a avaliação da robustez, considerando a utilização de diferente tipo de água no ensaio (água corrente), verificou-se que o método não se apresentou robusto. Já no segundo teste, fazendo variar a velocidade de agitação do equipamento o método apresentou-se robusto.
- No estudo utilizando um outro método de determinação do Teor de Pó com o auxílio do equipamento "Hach Lange", verificou-se que este aparelho apresenta resultados práticos superiores, sendo mais precisos, uma vez é um método que permite ler numa gama mais elevada que no método usual, onde apenas partículas inferiores a  $1.2\ \mu m$  (dimensão do poro) conseguem "passar" pela membrana.

- Ao propor a definição de nova especificação para os diferentes tipos de rolha, foi possível obter um  $LSE_A=0.90$  e  $LSE_B=1.03$ , o grupo A constituído pelos tipos A= Aglo RCT  $\geq 25$  mm; 0+1  $\geq 25$  mm, Advantec. e o grupo B= TT ;0+2. Estes novos limites estão abaixo da especificação atual, no entanto é de considerar que se encontram muito acima do LD.
- A validação do método não deve ser considerada uma vez que todos os resultados obtidos no estudo não são considerados detetáveis nem quantificáveis, considerando os limiares analíticos. O método apresenta uma linha de base com muito ruído associado a uma posterior incerteza nos resultados.
- Pode-se então concluir que, nas condições que os ensaios foram realizados não foram reunidas as condições exigidas para a validação do método, no entanto todos os resultados obtidos estão dentro do parâmetro estipulado como máximo de especificação, que em termos de relevância é o fator que determina se uma determinada amostra como rejeitada ou não.

Relativamente ao método de Teor de Peróxidos verificou-se que:

- A gama de trabalho deste método encontra-se definida entre 0.2-20.0 mg/l  $H_2O_2$ . A especificação atual deste método encontra-se nos 0.1 mg/rolha, correspondendo a 3 mg/l  $H_2O_2$ .
- Os limites de deteção e quantificação para este método são obtidos baseados na gama de trabalho, sendo que a concentração mínima que é possível distinguir do branco, será o limite inferior da gama que o aparelho permite ler, 0.2 mg/l  $H_2O_2$ .
- No estudo da precisão em condições de repetibilidade, o limite de repetibilidade foi ultrapassado apenas numa medição. Na avaliação da repetibilidade através do coeficiente de variação observou-se que este apresentou um valor de 10%, sendo considerado um valor baixo. No estudo da precisão em condições de reprodutibilidade, os resultados obtidos nos dez ensaios são bastante positivos, apresentando um valor de z-score sempre inferior a 2, sendo que apenas no segundo foi obtido um z-score=2,23 menos satisfatório. No estudo da precisão em condições de precisão intermédia, o limite de precisão nunca foi ultrapassado por nenhuma diferença absoluta entre dois ensaios realizados, com exceção de duas medições. Deste modo conclui-se que o método, nas condições sob as quais os ensaios foram realizados, se apresenta preciso.
- Dos resultados obtidos é possível observar que o método não é robusto para as variações de velocidade de agitação (150-101 U/min). Para o ensaio onde houve alteração do tipo de água (água corrente) o método também não se apresentou robusto.
- Pode-se então concluir que, nas condições a que os testes foram realizados, o método se encontra validado, não sendo possível garantir que, após alterações das condições operatórias o método apresente resultados semelhantes. A estas condições operatórias poder-se-á juntar o erro humano, assim como a etapas precedentes como a lavação e o tipo de máquina em que esta ocorre.

## Sugestões de Trabalho Futuro

- Aquando da realização de uma auditoria preliminar com o objetivo de constatar quais seriam os métodos de ensaio a validar, foram detetados diversos desvios interpretativos. Assim, seria de interesse elaborar e implementar um plano de boas práticas no laboratório.
- Relativamente ao método de Teor de Pó, devem ser analisadas as causas do ruído da linha de base, com o intuito de perceber se existe alguma etapa que influencie mais significativamente o método.
- Investigação das causas associadas à maior libertação de pó em rolhas, desde o início do processo de produção até ao produto final.
- Em ambos os métodos a validar as normas enunciavam a utilização de água destilada, no entanto foi sempre utilizada água filtrada, averiguar se existe ou não diferença face a essa alteração.
- Para a equipa de gestão do laboratório seria de sugerir uma redefinição o layout da zona de realização de ensaios, de forma a uniformizar o espaço e diminuir o desperdício de tempo.



## Bibliografia

- Adrados, J. R.; Haro, R. M. C. (1994):** *Variacion de la humedad de equilibrio del corcho en plancha con la humedad relativa. Modelos de regresion no lineal para las isothermas de adsorcion. Invest. Agrar. Sist. Recur. For., Vol 3 (2): 199-209.*1994.
- Amorim (2016):** <http://www.amorim.com/corticeira-amorim/grupo-amorim/apresentacao/> (acedido a 10 de janeiro de 2016).
- Amorim Cork América. (2007):** *Amorim Media Kit.* s.l.: Corticeira Amorim, 2007.
- APCOR (2015):** *Cortiça Cork 2015.* 2015.
- Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., Moutounet, M. (2002):** *Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. Anal. Chim. Acta, 21793, 1-13.* 2002.
- Boerjan, W., Chatonnet, P., Baucher, M. (2003):** *Lignin Biosynthesis. Annual Review of Plant Boiology, 54, 519-546.*2003.
- Cabral, Gil, L. (1988):** *Cortiça. Tecnologia de Processamento e Constituição Química.* LNTI,Portugal.1988.
- Carvalho, J. (1987):** *Propriedades e composição química da cortiça.* Instituto Superior Técnico, Lisboa.1987.
- Carvalho, A. (1989):** *Considerações sobre silvotecnologia em subericultura.* In "Identificação de prioridades e recursos de I&D sobre cortiça". Workshop organizado pela FLAD, Lisboa: 81-104 1989.
- Castellari, M., Matricardi, L., Arfelli, G., Galassi, S., Amati, A. (2002):** *Level of single bioactive phenolic in red wines as a function of the oxygen supplied during storage. Food Chem., 69, 61-67.* 2002.
- Chatonnet, P., Labadie, D., Gubbiotti, M-C. (2000):** *Comparative study of different types of corkage.* Revue des Oenologues et des Techniques Vitivinicoles et Oenologiques, 95, 7-13. 2000.
- Conde, E., Cadahía, E., García-Vellejo, M., González-Adrados J. (1998):** *Chemical characterization of reproduction cork from Spanish Quercus suber. J. Wood Chem.Technol.*18, 447-469. 1998.
- Conde, E., Cadahía, E., García-Vallejo, M., Fernández de Simón, B.( 1998):** *Polyphenolic Composition of Quercus suber cork from different Spanish provenances. J. Agric. Food Chem.,*46, 3166-3171.1998.
- Conde, E., García-Vellejo, C., Cadahía, E. (1999):** *Waxes composition of reproduction cork from Quercus suber and its variability throughout the industrial processing. J. Wood Sci.Technol., 33, 229-244.* 1999.

**Correia, C. A. P. (1965):** *Critérios de qualidade da cortiça - A posição da potassa na fisiologia do sobreiro*. Cortiça Nº 321: 137-142.<sup>o</sup>. 1965.

**Danilewicz, J. C. (2003):** *Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: Central role of iron and copper*. American Journal of Enology and Viticulture, 54, 73–85. 2003.

**Escudero, A., Asensio, E., Cacho, J., Ferreira, V. (2002):** *Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants*. Food Chem., 77, 325-331. 2002.

**Ferreira, M. C.; Ferreira, G. W. S. (1986):** *Notas sobre os insectos nocivos ao Quercus suber L. em Portugal*. In "1º Encontro sobre Montados de Sobro e Azinho", Sociedade Portuguesa de Ciências Florestais, Évora: 405-417. 1986.

**Godden, P., Francis, L., Field, J., Gishen, M., Coulter, A., Valente, P., Robinson, E. (2001):** *Wine bottle closures: Physical characteristics and effect on composition and sensory properties of a Semillon wine 1. Performance up to 20 months post-bottling*. Aust. J. Grape wine Res. 7, 64-105. 2001.

**George, Michael L. (2005):** *The Lean Six Sigma pocket toolbox : a quick reference guide to nearly 100 tools for improving process quality, speed, and complexity*. New York: McGraw-Hill. 2005.

**Gil L. (1998):** *Cortiça — Produção, Tecnologia e Aplicação*, Ed INETI, Lisboa. 1998.

**Gil, Luís. (2006):** *A cortiça como material de construção*. Manual Técnico da cortiça. 2006.

**Graça, J.; Barros, L.; Pereira, H. (1986):** *Optimização do Ciclo Industrial da Cortiça – A preparação da cortiça*. Departamento de Engenharia Florestal. ISA. 1986.

**Oliveira MA, Oliveira L. (2000):** *The Cork*. Ed. Corticeira Amorim, Rio de Mouro. 2000.

**Guia RELACRE 13 (2000):** " *Validação de Métodos internos de ensaio em Análise Química*", Relacre, Lisboa. 2000.

**Haluk, J., Irmouli, M. (1998):** *The fixed polymer constituents in cooperage oak: cellulose, hemicelluloses and lignin*. J. Sci. Tonn.,4, 43-82. 1998.

**INMETRO (2003):** *Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos*. Inmetro. Rio de Janeiro. 2003

**John, A., Meran, R., Lunau, S., & Roenpage, O. (2008):** *Six Sigma Plus Lean Toolset*: Springer Berlin Heidelberg. 2008.

**Lissia, F. (1977):** *Isolamento térmico e acústico em edifícios de habitação e construções industriais*. Cortiça Nº 469: 553-561. 1977.

**Liese, W.; Gunzerodt, H.; Parameswaran, N. (1983):** *Alterações biológicas da qualidade da cortiça que afectam a sua utilização*. Cortiça Nº 541: 277-299. 1983.

**Lopes, P., Saucier, C., Teissedre, P-L, Glories, Y. (2006):** *Impact of storage position on oxygen ingress through different closures into wine bottles*. J. Agric. Food Chem., 54, 6741- 6746. 2006.

**Macias, V., Pina, I., Rodriguez, L. (2001):** *Factors influencing the oxidation phenomena of sherrywine.* Am. J. Enol. Vitic., 52, 151-155. 2001.

**Mas, A., Puig, J., Llado, N., Zamora, F. (2002):** *Sealing and storage position effects on wine evolution.* J. Food Sci., 67, 1374-1378. 2002.

**Melton, T. (2005):** *The benefits of lean manufacturing - What lean thinking has to offer the process industries.* Chemical Engineerin G Research & Design, 83, 662–673. doi:10.1205/cherd.04351. 2005.

**Mendes, A.M.M., Oliveira, M.F.B., Pontes, S.L.R.P. (2012):** *Processo de aplicação de revestimento polimérico em rolhas de cortiça.* PT. Pat. 10550, 2012. 32p. Amorim & Irmãos, S.A. 2012.

**Moutounet, M., Mazauric, J. (2000):** *L'oxygène dissous dans les vins.* Rev. Fr. Oenol., 186, 12-15. 2000.

**Natividade, V. (1948):** *Sobre a ocorrência de formações esclerosas (nails) no tecido suberoso do sobreiro.* Cortiça. Nº109: 5-13. 1948.

**Natividade, V. (1950):** *Subericultura.* Ministério da Agricultura, Pescas e Alimentação - Direcção Geral das Florestas. Lisboa. 1950.

**Pinto, J. P. (2009):** *Pensamento Lean: A Filosofia das Organizações Vencedoras.* Lisboa: Lidel. 2009.

**Pereira, H. (1988 a):** *Chemical composition and variability of cork from Quercus suber L.* Wood Science and Technology, Vol. 22: 211-218. 1988.

**Pereira, H. (1988 b):** *O que é a cortiça.* Cortiça Nº 600: 15-18. 1988.

**Karbowiak, T., Gougeon, R. D., Alinc, J. B., Brachais, L., Debeaufort, F., Voilley, A., Chassagne, D. (2010):** *Wine oxidation and the role of cork.* Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 50, 20-52.

**Reis, A. (1986):** *Alterações verificadas nas dimensões da cortiça durante a sua cozedura - Uma primeira análise.* Cortiça. Nº 568: 45-49. 1986.

**Requeijo, Z. Lopes Pereira e José Gomes (2008):** *Planeamento e Controle Estatístico de Processos.* s.l.: Livros e Revistas, Lda. 2008.

**Ribeiro, I. (2008):** *Validação de Métodos - Encontro de Técnicos de Laboratórios de Saúde Pública.* Lisboa: Laboratório de Química e Toxicologia de Águas. 2008.

**Ribéreau-Gayon, P., Pontallier, P., Glories, Y. (1983):** *Some interpretations of color changes in young red wines during their conservation.* J. Sci. Food Agric., 34, 505-516. 1983.

**Rosa, M. E. (1993):** *Verde da cortiça.* Relatório Final dos Estudos sobre Qualidade e Processamento da Cortiça. 1993.

**Sousa, A., Pinto, P., Silvestre, A., Neto, C. (2006):** *Triterpenic and other lipophilic components from industrial cork byproducts.* J. Agric. Food Chem., 54, 6888-6893. 2006.

**Silva, M. C. M. (2010):** *A cortiça as suas características e propriedades*. Apontamentos de tecnologia dos Produtos Florestais. 2010.

**Silva Ferreira, A., Guedes de Pinho, P., Rodrigues, P., Hogg, T. (2002):** *Kinetics of oxidative spoilage of white wines and how they are affected by selecte technological parameters*. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2919-5924. 2002.

**Singleton, V., Trousdale, E., Zaya, J. (1979):** *Oxidation of wines. I. Young white wines periodically exposed to air*. *Am. J. Enol. Vitic.* 30, 49-53. 1979.

**Skouroumounis, G., Kwiatkowski, M., Francis, I., Oakey, H., Capone, D., Duncan, B., Sefton, M., Waters, E. (2005):** *The impact of closures type and storage conditions on the composition, colour and flavour properties of a Riesling and a wooded Chardonnay wine during five years'storage*. *Aust. J. Grape wine Res.* 11, 369-384. 2005.

**Summers, Donna C. S. (2011):** *Lean six sigma: process improvement tools and techniques*. Boston: Pearson Prentice Hall. 2011.

**Waterhouse, A. L., & Laurie, V. F. (2006):** *Oxidation of wine phenolics: A critical evaluation and hypotheses*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57, 306–313. 2006.

**Whetten, R. W., Mackay, J. J., Sederoff, R. R. (1998):** *Recent advances in understanding lignin biosynthesis*. *Annual Review of plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 585-609. 1998.



## Anexo A – Resultados dos ensaios dos Limiares Analíticos: Teor de Pó.

Tabela 20. Resultados dos ensaios dos Limiares Analíticos: Teor de Pó

n	Massa inicial (P1) (g)	Massa final (P2) (g)	(P2-P1) /3 (g)
1	0,07	0,07	0
2	0,07	0,07	-6,67E-05
3	0,07	0,07	2,67E-04
4	0,07	0,07	0
5	0,07	0,07	2,00E-04
6	0,07	0,07	0
7	0,07	0,07	1,67E-04
8	0,07	0,07	6,67E-05
9	0,07	0,07	6,67E-05
10	0,07	0,07	3,33E-05

## Anexo B – Resultados dos ensaios de Repetibilidade: Teor de Pó.

Tabela 21. Resultados dos ensaios de Repetibilidade: Teor de Pó

n	Massa inicial(g)	Massa final(g)	Teor de Pó (mg/rolha)	$\bar{X}_i - \bar{X}_{i-1}$
1	13,30	13,30	0,19	-
2	13,68	13,68	0,19	0,00
3	13,27	13,27	0,22	0,04
4	13,28	13,28	0,11	0,11
5	13,18	13,18	0,15	0,04
6	13,72	13,72	0,14	0,01
7	13,13	13,13	0,14	0,00
8	13,10	13,11	0,24	0,10
9	13,18	13,18	0,09	0,15
10	13,11	13,11	0,14	0,05

## **Anexo C – Resultados dos ensaios de Reprodutibilidade: Teor de Pó.**

*Tabela 22. Resultados dos ensaios de Repetibilidade: Teor de Pó.*

Amostra	Massa inicial(g)	Massa final(g)	Teor de pó (mg/rolha)
1	13,03	13,03	0,15
2	13,02	13,02	0,10
3	13,00	13,00	0,13
4	12,78	12,78	0,10
5	13,24	13,24	0,13
6	12,98	12,98	0,10
7	12,04	12,04	0,10
8	13,26	13,26	0,12
9	13,20	13,20	0,10
10	12,63	12,63	0,12

## **Anexo D – Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Pó.**

*Tabela 23. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Pó. Operador 1.*

Operador 1	Massa inicial(g)	Massa final(g)	Teor de pó (mg/rolha)
1	13,48	13,50	2,65
2	13,58	13,60	1,91
3	12,97	12,97	0,51
4	13,43	13,44	0,21
5	13,02	13,02	1,00
6	13,10	13,10	0,12
7	13,68	13,68	0,19
8	13,30	13,30	0,05
9	13,28	13,28	0,18
10	13,11	13,11	0,21

*Tabela 24. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Pó. Operador 2.*

Operador 2	Massa inicial(g)	Massa final(g)	Teor de pó (mg/rolha)
1	13,30	13,30	0,36
2	13,13	13,13	0,38
3	13,72	13,72	0,40
4	13,11	13,11	0,25
5	13,28	13,28	0,39
6	13,68	13,68	0,44
7	13,26	13,27	0,35
8	13,10	13,11	0,40
9	13,18	13,18	0,44
10	13,18	13,18	0,30

*Tabela 25. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Pó. Operador 3.*

Operador 3	Massa inicial(g)	Massa final(g)	Teor de pó (mg/rolha)
1	13,72	13,72	0,40
2	13,18	13,18	0,30
3	13,13	13,13	0,32
4	13,18	13,18	0,14
5	13,48	13,48	0,09
6	13,58	13,58	0,14
7	12,96	12,97	0,09
8	13,43	13,44	0,21
9	13,01	13,02	0,16
10	13,26	13,27	0,10

#### **Anexo D – Resultados dos ensaios de Robustez: Teor de Pó.**

*Tabela 26. Resultados dos ensaios de Robustez: Teor de Pó. Ensaios com água filtrada.*

Água filtrada	Massa inicial(g)	Massa final(g)	Teor de pó (mg/rolha)
1	13,18	13,18	0,30
2	13,28	13,28	0,29
3	13,18	13,19	0,24
4	13,30	13,30	0,23
5	13,13	13,13	0,08
6	13,68	13,69	0,51
7	13,72	13,73	0,39
8	13,11	13,11	0,24
9	13,11	13,11	0,22
10	13,27	13,27	0,31

*Tabela 27. Resultados dos ensaios de Robustez: Teor de Pó. Ensaios com água corrente.*

Água corrente	Massa inicial(g)	Massa final(g)	Teor de pó (mg/rolha)
1	13,18	13,18	0,45
2	13,28	13,28	0,81
3	13,18	13,19	0,74
4	13,30	13,30	0,32
5	13,13	13,13	0,50
6	13,68	13,68	0,35
7	13,72	13,73	0,40
8	13,11	13,11	0,35
9	13,10	13,11	0,48
10	13,27	13,27	0,64

## Anexo D – Resultados dos ensaios utilizando o equipamento “Hach Lange”.

Tabela 28. Resultados dos ensaios utilizando o equipamento “Hach Lange”: Teor de Pó.

n	Sólidos suspensos	
	mg/L	mg/rolha
1	25	3,13
2	48	6,00
3	26	3,25
4	18	2,25
5	17	2,13
6	17	2,13
7	43	5,38
8	12	1,50
9	30	3,75
10	31	3,88

## Anexo E – Resultados dos ensaios de Repetibilidade: Teor de Peróxidos.

Tabela 29. Resultados dos ensaios de Repetibilidade: Teor de Peróxidos.

n	mg/litro	Teor peróxidos mg/rolha	$ X_i - X_{i-1} $
1	8,3	0,3	-
2	8,3	0,3	0,0
3	6,7	0,2	0,1
4	9,9	0,3	0,1
5	8,3	0,3	0,1
6	8,7	0,3	0,0
7	8,1	0,3	0,0
8	9,5	0,3	0,1
9	9,3	0,3	0,0
10	9,6	0,3	0,0

## Anexo F – Resultados dos ensaios de Reprodutibilidade: Teor de Peróxidos.

Tabela 30. Resultados dos ensaios de Reprodutibilidade: Teor de Peróxidos.

n	Teor peróxidos (mg/rolha)
1	0,8
2	0,5
3	0,7
4	0,7
5	0,7
6	0,7
7	0,9
8	0,7
9	0,7
10	0,7

## Anexo G – Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Peróxidos.

Tabela 31. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Peróxidos. Operador 1.

Operador 1	mg/litro	Teor peróxidos (mg/rolha)
1	2,9	0,1
2	3,1	0,1
3	2,5	0,1
4	2,9	0,1
5	3,4	0,1
6	3,4	0,1
7	3,7	0,1
8	3,2	0,1
9	3,7	0,1
10	4	0,1

Tabela 32. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Peróxidos. Operador 2.

Operador 2	mg/litro	Teor peróxidos (mg/rolha)
1	3,8	0,1
2	3,7	0,1
3	3,7	0,1
4	2,8	0,1
5	2,6	0,1
6	3,4	0,1
7	3,8	0,1
8	2,9	0,1
9	3,4	0,1
10	3,4	0,1

*Tabela 33. Resultados dos ensaios de Precisão intermédia: Teor de Peróxidos. Operador 3.*

<b>Operador 3</b>	<b>mg/litro</b>	<b>Teor peróxidos (mg/rolha)</b>
1	4,5	0,2
2	3,9	0,1
3	3,7	0,1
4	4,1	0,1
5	4,4	0,2
6	1,6	0,1
7	4,8	0,2
8	4,6	0,2
9	4	0,1
10	4,6	0,2

#### **Anexo H – Resultados dos ensaios de Robustez: Teor de Peróxidos.**

*Tabela 34. Resultados dos ensaios de Robustez: Teor de Peróxidos. Ensaio com água corrente.*

<b>n</b>	<b>mg/litro</b>	<b>Teor peróxidos (mg/rolha)</b>
1	6,5	0,2
2	6,4	0,2
3	4,9	0,2
4	5,7	0,2
5	5,6	0,2
6	6,4	0,2
7	5,1	0,2
8	5,6	0,2
9	5,4	0,2
10	4,8	0,2

*Tabela 35. Resultados dos ensaios de Robustez: Teor de Peróxidos. Ensaio com água filtrada.*

<b>n</b>	<b>mg/litro</b>	<b>Teor peróxidos (mg/rolha)</b>
1	4,1	0,1
2	4,9	0,2
3	4,1	0,1
4	4,3	0,1
5	5,2	0,2
6	4,6	0,2
7	4,7	0,2
8	5,4	0,2
9	4,6	0,2
10	4,3	0,1